



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

**UTILIZAÇÃO DE PROBIÓTICOS EM PERUS (*MELEAGRIS GALLOPAVO*) COMO
PROMOTORES DO CRESCIMENTO**

ANDRÉ DE CASTRO RODRIGO DA COSTA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Presidente:

Doutor José António Mestre Prates

Vogais:

Doutor Carlos Mendes Godinho de Andrade Fontes

Doutor Fernando Jorge Silvano Boinas

Dr. Tiago Manuel Branco Grosso

ORIENTADOR

Dr. Tiago Manuel Branco Grosso

CO-ORIENTADOR

Doutor Fernando Jorge Silvano Boinas

2009

LISBOA



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

**UTILIZAÇÃO DE PROBIÓTICOS EM PERUS (*MELEAGRIS GALLOPAVO*) COMO
PROMOTORES DO CRESCIMENTO**

ANDRÉ DE CASTRO RODRIGO DA COSTA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

ORIENTADOR

Presidente:

Dr. Tiago Manuel Branco Grosso

Doutor José António Mestre Prates

CO-ORIENTADOR

Vogais:

Doutor Fernando Jorge Silvano Boinas

Doutor Carlos Mendes Godinho de Andrade Fontes

Doutor Fernando Jorge Silvano Boinas

Dr. Tiago Manuel Branco Grosso

2009

LISBOA



Para minha avó Maria Irene.

*Que hoje veria realizado um
dos seus sonhos.*



AGRADECIMENTOS

Ao terminar este trabalho senti simultaneamente, tristeza e alegria! Tristeza porque gostaria que alguém que já não o pode, pudesse presenciar este momento e alegria, porque se abre agora um novo capítulo da minha vida, com novas perspectivas e horizontes.

Este foi um projecto que durou cerca de um ano e durante o seu desenvolvimento recebi o apoio de várias pessoas, às quais gostaria de expressar a minha gratidão. Assim sendo, agradeço ao Dr. Tiago Grosso, o meu orientador e grande mestre, que me conduziu na descoberta da avicultura; com ele aprendi quase tudo o que sei, sobre uma área que até então me era quase completamente desconhecida. Ao professor Fernando Boinas, por ter prontamente aceitado co-orientar este trabalho, por toda a simpatia e disponibilidade demonstradas e também, pelo valioso apoio técnico e sabedoria que me concedeu. Ao professor António Menezes, cujos contactos, paciência, experiência e conhecimento notável sobre a matéria, foram preponderantes na construção e aperfeiçoamento desta tese. À professora Isabel Neto, pelo auxílio imprescindível na análise dos dados e pela sua prestabilidade ímpar. À minha tia, por todo o tempo perdido na correcção da escrita deste trabalho.

Gostaria também de agradecer às empresas Rações Zêzere, S.A. e Agropefe, Ltd., todo o apoio logístico disponibilizado e às empresas Intervet Schering-Plough Animal Health e Vetagri Alimentar, S.A. e aos seus respectivos correspondentes o Dr. Daniel Moreno e a Dra. Carla Aguiar, a disponibilidade demonstrada e a oferta dos probióticos utilizados no estudo.

Ao pessoal das rações Zêzere, pelo companheirismo e amizade, que fizeram que cada dia de trabalho parecer mais um dia de lazer.

E por fim, quero agradecer à minha família, pois ela é a base do meu carácter e da minha formação; é o reflexo de quem eu sou. Aos meus verdadeiros amigos, que são poucos, embora os suficientes para me sentir feliz e apoiado mesmo quando a vida não sorri. À minha namorada, pelo amor incondicional que tem demonstrado e por toda a ajuda que me deu. A todos os outros que de alguma forma ajudaram a moldar a minha pessoa, ao longo da minha vida



UTILIZAÇÃO DE PROBIÓTICOS EM PERUS COMO PROMOTORES DE CRESCIMENTO

Resumo

Nos últimos anos a actividade pecuária tem sofrido um forte desenvolvimento, salientando-se a avicultura como um dos seus sectores mais florescentes. Contudo, a intensificação dos sistemas de produção, levou a um agravamento dos problemas sanitários, que foram até recentemente controlados com a utilização dos antibióticos promotores do crescimento (APCs). Porém, a estes, estão associados vários problemas tais como a criação de resistências em humanos e por este motivo vários países, incluindo os da União Europeia, têm limitado ou proibido a sua utilização, forçando uma busca de novas alternativas. Entre as que têm sido adiantadas, destacam-se os probióticos, que são produtos compostos por microflora bacteriana viva, capaz de exercer um efeito benéfico sobre o seu hospedeiro.

Neste trabalho avaliou-se o efeito de dois probióticos comerciais sobre os índices produtivos de perus numa situação normal de engorda (ensaio de campo) e também a sua capacidade de diminuir as rejeições no matadouro. Foram definidos três grupos de estudo: o grupo Controlo não suplementado, o grupo Aviguard, ao qual foi administrado o probiótico Aviguard® na água de bebida e o grupo Bioplus, ao qual se incorporou continuamente no alimento o probiótico Bioplus2B®.

A utilização destes probióticos não melhorou os índices produtivos nem diminuiu as rejeições no matadouro, contudo, houve uma melhoria aparente, da uniformidade do bando Bioplus. No entanto, vários factores relacionados com o manejo, a biossegurança, as instalações, o tipo de estudo, o tipo de produto utilizado ou simplesmente imponderáveis (ex.doenças), poderão provavelmente, ter contribuído para a inconclusividade dos resultados.

Palavras-chave: antibióticos promotores do crescimento (APCs); avicultura; Aviguard; Bioplus; peru; probiótico.



UTILIZATION OF PROBIOTICS AS GROWTH PROMOTERS IN TURKEY POULTS.

Abstract

Animal husbandry had a remarkable development in recent years and, within its sectors, poultry production stands out as one of the most flourishing ones. However, the intensification of production systems has resulted in a degradation of animal health, which has, until now, been controlled by the use of antibiotic growth promoters (AGPs).

Unfortunately AGPs have been associated to problems like antibiotic resistance in humans. For that reason, several countries, including European Union, have already restricted or banned its use, and so, forced the seeking of new alternatives. Among the alternatives presented we can the probiotics, which are composed by live microflora that is able to produce a beneficial effect on the host.

A study in field conditions (field trial), was developed to evaluate the effect of two commercial probiotics on turkey's (commercial flocks) performance and condemnation rates at slaughter. Three groups have been defined: the group Control, not supplemented, the group Aviguard, supplemented with Aviguard[®] in the drinking water, and the group Bioplus, to which the probiotic Bioplus2B[®], was added continuously in feed

None of the probiotics increased performance nor reduced the condemnation rate, though Bioplus flock appeared to be more uniform. Several factors related with: the management, the biossecurity, the type of study developed, the facilities, the type of product that has been used, or related with imponderable factors such as diseases, have probably contributed for the inconclusiveness of the results.

Key-words: antibiotic growth promoters (AGPs); Aviguard; Bioplus; poultry; probiotic; turkey.



ÍNDICE GERAL

Nota Prévia.....	1
1 - Introdução e Objectivos.....	5
1.1 - Introdução	5
1.2 - Objectivos	7
Revisão Bibliográfica.....	8
2 - Actualidade e perspectivas futuras da avicultura mundial e portuguesa.....	8
3 - Antibióticos Promotores do Crescimento	11
4 - Alternativas aos APCs	14
5 - Probióticos.....	18
5.1 - Definição	18
5.2 - História	19
5.3 - Microflora intestinal das aves.....	21
5.4 - Composição dos probióticos, vias de administração e atributos	23
5.4.1 - Composição	23
5.4.2 - Via de administração	25
5.4.3 - Atributos desejáveis.....	26
5.5 - Mecanismos de acção.....	27
5.5.1 - Exclusão competitiva.....	27
5.5.2 - Imunomodulação	30
5.5.3 - Acção sobre a digestão e absorção de nutrientes.....	31
5.5.4 - Outros mecanismos de acção.....	31
5.6 - Factores que influenciam a eficácia dos probióticos.....	32
Avaliação da eficácia dos produtos Aviguard® e Bioplus2B® em perus de engorda (<i>Meleagris gallopavo</i>) numa situação de campo.....	33
6 - Material e métodos	33
6.1 - Instalações	33
6.2 - Biossegurança.....	34
6.3 - Maneio.....	35
6.3.1- Maneio Preparatório	35
6.3.2- Maneio geral.....	35
6.3.3- Plano profilático e monitorização de <i>Salmonella spp.</i>	36
6.3.3.1- Plano profilático	36
6.3.3.2- Monitorização de <i>Salmonella spp.</i>	37
6.4- Aves.....	38
6.5 - Produtos utilizados	38
6.6 - Desenho Experimental.....	38
6.7 - Medições e análises	39
6.7.1. - Peso vivo médio (PVM)	39
6.7.2 - Ganho médio diário (GMD)	39



6.7.3- Mortalidade.....	40
6.7.4- Índice de conversão alimentar	40
6.7.5 - Uniformidade do bando	40
6.7.6 - Taxa de rejeição.....	41
6.8 - Análise estatística.....	41
7 - Resultados	42
7.1- Mortalidade semanal e cumulativa	42
7.2 – Ganho médio diário (GMD) e Peso vivo médio (PVM)	48
7.3 - Índice de conversão alimentar (ICA)	51
7.4- Uniformidade do bando	53
7.5. - Taxa de rejeição.....	54
8 - Discussão	55
9 - Conclusão	62
10 - Bibliografia	63
Anexo 1	75
Anexo 2	77
Anexo 3	80
Anexo 4	81

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Interior de um pavilhão de postura da Zêzero.	1
Figura 2. Interior de um pavilhão de engorda de perus da Agropefe	2
Figura 3. Transferência dos pintos fêmea para o pavilhão de postura	3
Figura 4. Pavilhão durante a limpeza e desinfecção.	3
Figura 5. Produção mundial de carne por espécie (2008)	8
Figura 6. Carne aprovada para consumo em Portugal segundo as espécies (2007).....	10
Figura 7. Consumo de carne em Portugal segundo as espécies (2008).....	10
Figura 8. Aura de inibição provocada por bacteriocinas.....	29
Figura 9. Estação de isco.....	34
Figura 10. Pedilúvio na entrada dos pavilhões.....	34
Figura 11. Descarga dos perus do dia após a chegada às instalações.	36
Figura 12. Meio de cultura MSRV com colónia positiva.	37
Figura 13. Mortalidade semanal (%) verificada nos grupos Bioplus (linha tracejada), Controlo (linha continua) e Aviguard (linha pontuada) durante as 12 semanas do estudo e mortalidade semanal (%) standard de perus de engorda (linha vermelha).....	43



Figura 14. Diarreia esbranquiçada observada nos animais do grupo Bioplus na 8ª semana do estudo.	44
Figura 15. Diarreia amarela “enxofre”	45
Figura 16. Lesões patognomônicas de Histomoníase.	45
Figura 17. Diferença (%) entre as Mortalidades Standard e as obtidas no Pavilhão Controlo durante o ensaio e nos 7 ciclos de engorda anteriores.....	46
Figura 18. Diferença (%) entre as Mortalidades Standard e as obtidas no Pavilhão Bioplus durante o ensaio e nos 7 ciclos de engorda anteriores.....	47
Figura 19. Diferença (%) entre as Mortalidades Standard e as obtidas no Pavilhão Aviguard durante o ensaio e nos 7 ciclos de engorda anteriores.....	47
Figura 20. Diferença (%) entre os PVMs Standard e os obtidos no Pavilhão Controlo durante o ensaio e nos 7 ciclos de engorda anteriores.....	50
Figura 21. Diferença (%) entre os PVMs Standard e os obtidos no Pavilhão Bioplus durante o ensaio e nos 7 ciclos de engorda anteriores.....	50
Figura 22. Diferença (%) entre os PVMs Standard e os obtidos no Pavilhão Aviguard durante o ensaio e nos 7 ciclos de engorda anteriores.....	51
Figura 23. Diferença (%) entre os índices de conversão Standard e os obtidos no Pavilhão Controlo durante o ensaio e nos 7 ciclos de engorda anteriores.....	52
Figura 24. Diferença (%) entre os índices de conversão Standard e os obtidos no Pavilhão Bioplus durante o ensaio e nos 7 ciclos de engorda anteriores.....	52
Figura 25. Diferença (%) entre os índices de conversão Standard e os obtidos no Pavilhão Aviguard durante o ensaio e nos 7 ciclos de engorda anteriores.....	53
Figura 26. Coeficientes de variação do PVM (%) observados nos grupos Bioplus, Controlo e Aviguard em cada uma das semanas do estudo.	54

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Filo, família e género das bactérias mais representativas do tracto gastrointestinal das aves adultas.	22
Tabela 2. Características desejáveis num probiótico.....	27
Tabela 3. Plano profilático para perus (da empresa)	36
Tabela 4. Mortalidade cumulativa (%) dos grupos Controlo, Bioplus e Aviguard em cada uma das semanas do estudo e mortalidade cumulativa Standard (%) de perus de engorda.	46
Tabela 5 GMD (g/d) dos grupos Controlo, Bioplus e Aviguard em cada uma das semanas do estudo.	48
Tabela 6. PVM (kg) dos grupos Controlo, Bioplus e Aviguard em cada uma das semanas do estudo.	49
Tabela 7. Índice de conversão alimentar conjunto dos machos e das fêmeas no fim do ciclo de criação, em cada grupo de estudo.	51
Tabela 8. Taxa de rejeição (%) no matadouro observada em cada grupo.	54



Lista de abreviaturas, siglas e símbolos utilizados

%	Porcentagem
±	Mais ou menos
®	Marca registrada
≈	Aproximadamente
≤	Menor ou igual
°C	Grau Celsius
APCs	Antibióticos Promotores do Crescimento
AVEC	Association of Poultry Processors and Poultry Trade in the European Union Countries
BUT	British United Turkeys
ICA	Índice de conversão alimentar
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ex.	Exemplo
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FWAC	Farm Welfare Animal Council
FOS	Fructooligossacáridos
g	Grama
g/d	Grama/dia
gen.	Gênero
GI	Gastrointestinal
GMD	Ganho Médio Diário
h	Hora
Ig	Imunoglobulina
INE	Instituto Nacional de Estatística
kg	Quilograma
kg/hab	Quilograma por habitante
km	Quilômetro
m	Metro
m²	Metro quadrado
mg	Miligramas



ml	Mililitro
MOS	Mananoligossacáridos
MSRV	Meio semi-sólido Rappaport-Vassiliadis modificado
PEMS	Poult Enteritis and Mortality Syndrome
PVM	Peso vivo médio
SPF	Specific pathogen free
ton	Toneladas
UI	Unidades internacionais
UNESCO	United Nations Educational, Scientific, and cultural Organization
WHO	World Health Organization



Nota Prévia

O trabalho aqui apresentado é o culminar de um estágio curricular de cinco meses desenvolvido na área da avicultura. Este teve lugar em várias empresas pertencentes ao grupo Zêzere, como é o caso: das Rações Zêzere, S.A., produtora de alimentos compostos para animais, da Zêzerovo, S.A. e da Uniovo, Lda., produtoras de ovos para consumo humano e da Agropefe, S.A. e Agrozol, Lda., ligadas à engorda de perus e de porcos. A orientação do estágio esteve a cargo do Dr. Tiago Grosso, responsável de produção do Grupo Zêzere e director de qualidade da fábrica de rações e a co-orientação a cargo do Prof. Dr. Fernando Boinas, docente da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa, conjuntamente com o Dr. António Menezes, professor convidado da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa, especializado na área da avicultura.

O Grupo Zêzere, conta com um total de 27 pavilhões de postura, totalizando um efectivo de cerca de 1.300.000 galinhas poedeiras.

Figura 1. Interior de um pavilhão de postura da Zêzerovo.



(Fotografia original)

Para engorda de perus o grupo dispõe de 17 pavilhões, enviando para abate anualmente um total de 255.750 animais.

Figura 2. Interior de um pavilhão de engorda de perus da Agropefe .



(Fotografia original).

Ao nível do manejo avícola, desenvolvi várias actividades rotineiras como por exemplo: o controlo ambiental dos pavilhões (ex. regular a temperatura), a alimentação dos animais, a recolha dos animais mortos, a sanitização dos pavilhões, o controlo de pragas, o manejo das camas, etc. Tive também a oportunidade de ajudar em algumas tarefas menos frequentes, como é o caso: da recepção das pintas (poedeiras) e dos perus do dia, da limpeza e desinfecção dos pavilhões ou a administração intramuscular de antibióticos a perus. Presenciei ainda, cortes de bicos, transferências do pavilhão de recria para o pavilhão de postura (Figura 3)¹, acções de apanha e carregamento para o matadouro, entre outras

Relativamente à acção médico-veterinária em campo, foi dada uma grande ênfase à manutenção das boas práticas de manejo, à higiene das instalações, à profilaxia e às questões relacionadas com a biossegurança. Também desenvolvi várias actividades relacionadas com o diagnóstico e com o tratamento de doenças, como por exemplo: a observação de sintomatologia digestiva e respiratória (identificar tosses, espirros, diarreias, etc.), necrópsias,

¹ As pintas são inicialmente criadas num pavilhão de recria, sendo depois transferidas por volta das 17 semanas para o pavilhão de postura.



a recolha e envio de amostras para o laboratório. Acompanhei e realizei administrações de medicamentos e vacinas aos animais, etc. Durante estas acções, contactei com algumas doenças frequentes em avicultura como, a Colibacilose, a Enterite Hemorrágica, a Micoplasmose (*Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma sinovae*), o Metapneumovírus do peru (TRT), o *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) e a Histomoníase (*Histomonas meleagridis*).

Figura 3. Transferência dos pintos fêmea para o pavilhão de postura



(Fotografia original)

Figura 4. Pavilhão durante a limpeza e desinfecção.



(Fotografia original)

Acrescentando às actividades atrás descritas, foi também dispensado muito tempo em medições e análises, fundamentais para a realização do ensaio apresentado neste trabalho. Visto que as instalações incluíam um laboratório preparado para fazer algumas análises parasitológicas e identificar alguns microrganismos patogénicos tais como a *Salmonella spp.* ou o *Mycoplasma gallisepticum*, foi possível ampliar os conhecimentos obtidos na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa, ao observar a realização de alguns procedimentos laboratoriais, como a pesquisa dos agentes atrás referidos, mas também ao realizar algumas actividades no laboratório, como a contagem de oocistos e de ovos de helmintes, ou a pesquisa de *Histomonas* em esfregaços de fígado.



Desenvolvi também algumas actividades por iniciativa própria, tais como a elaboração de duas fichas de controlo (sumárias), que visavam respectivamente, verificar a correcta lavagem e desinfeção dos pavilhões e fomentar alguns aspectos importantes da biossegurança (Anexo 1). Estas fichas, eram complementadas com duas apresentações, destinadas à formação dos trabalhadores, que focavam os aspectos básicos da transmissão das doenças e os conceitos básicos da biossegurança e também, a metodologia da lavagem e desinfeção dos pavilhões. Este período de estágio permitiu-me tomar conhecimento da realidade avícola portuguesa e, ao mesmo tempo, adquirir alguns conhecimentos e contactos que certamente se revelarão de grande importância para o meu futuro profissional.



1 - Introdução e Objectivos

1.1 - Introdução

Desde os primórdios da humanidade, a procura de carne tem-se evidenciado, como uma das principais preocupações alimentares do ser humano (United Nations Educational, Scientific, and cultural Organization [UNESCO], 1996). Este alimento, devido ao seu alto valor nutritivo, constitui uma importante fonte de proteínas (de alta qualidade biológica), vitaminas, minerais e micronutrientes, essenciais para um crescimento e desenvolvimento saudável (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2009).

Foram estas propriedades nutritivas que conduziram o Homem do Paleolítico à invenção de inúmeros utensílios e artes de caça e pesca que, por sua vez, permitiram a obtenção de alimento em maiores quantidades, reservando mais tempo para a realização de tarefas como a arte e o pensamento abstracto, entre outras (UNESCO, 1996). No entanto, no fim do período Plistocénico², uma notável expansão demográfica associada a um longo período de seca, levou a uma diminuição drástica das populações cinegéticas mundiais, exercendo uma enorme pressão sobre as comunidades e dando lugar à domesticação (UNESCO, 1996). Neste período, o Homem ainda nómada, praticava uma “agricultura itinerante” (Castro-Calda, 1995) encarando os primeiros animais domésticos como reservas alimentares³. Estes eram mantidos em pequenos cercados rudimentares, com um número muito reduzido de indivíduos que, como ainda não haviam sofrido selecção, se assemelhavam aos seus parentes selvagens, possuindo como tal, uma grande variabilidade genética (UNESCO, 1996).

Com a sedentarização do Homem surgiu a “agricultura contínua”, que vigorou durante milénios tendo suportado várias civilizações em expansão, como por exemplo, a egípcia, a mesopotâmica, a grega, ou a romana. Durante este período, criaram-se sólidas rotinas agrícolas, com um alto conteúdo técnico, tanto na produção vegetal como animal. Seguiu-se um período de relativa estabilidade, onde apenas se observou um progresso técnico notável, no período da expansão marítima, principalmente devido ao intercâmbio de plantas e animais que exerceu um efeito revitalizador sobre a agricultura. No séc. XVIII, como consequência da revolução industrial e do precedente desenvolvimento derivado da expansão marítima, a

² Sistema da era quaternária, que compreende o conjunto dos terrenos pós-pleistocénicos e anteriores às formações actuais (compreendido entre 1 milhão e 806 mil e 11 mil e 500 anos atrás, aproximadamente)(Teixeira, 1995)

³ Excepto o cão que era utilizado essencialmente na caça.



agricultura e a pecuária experimentam um progresso técnico significativo e evoluíram em dimensão, complexidade e produtividade (Castro-Calda, 1995).

Nos dois séculos seguintes verificou-se um grande crescimento da população mundial, que pressupôs um incremento análogo na procura de carne. Por este motivo, os sistemas de produção tiveram de se adaptar às necessidades circunstanciais, evoluindo novamente (Castro-Calda, 1995).

Contudo, foi a partir da década de 1950 que esta procura mais se acentuou, motivada por uma explosão demográfica sem precedentes e pela nova dinâmica da economia mundial (Gewehr, 2006). Para atender às necessidades de uma população em crescimento exponencial, a produção pecuária, tornou-se mais intensiva, industrializada e eficiente (FAO, 2007a). Nos últimos anos, o grande progresso económico dos países em vias de desenvolvimento e o contínuo aumento da população mundial, têm enfatizado esta realidade, prevendo-se que, na próxima década, o sector pecuário continue em tendência de crescimento (Association of Poultry Processors and Poultry Trade in the European Union Countries [AVEC], 2009).

Durante a última década, a avicultura foi o sector pecuário que mais cresceu, principalmente impulsionado pela carne de frango (FAO, 2007a; AVEC, 2009). Na actualidade, a carne proveniente de aves representa um terço da carne consumida em todo o mundo FAO (2009).

Porém, este crescimento foi conseguido à base do aumento de intensificação dos sistemas de produção e das densidades animais. As grandes concentrações de animais, em espaços limitados, fomentaram o desenvolvimento e a disseminação das doenças, degradando a saúde animal. Porém, este problema tem sido controlado, com a incorporação de alguns antibióticos em doses subterapêuticas no alimento fornecido aos animais que, além do efeito preventivo contra algumas doenças, demonstraram também ter um efeito promotor do crescimento (Berrang, Ladely, Meinersmann, & Fedorka-Cray, 2007; Gaskins, Collier, & Anderson, 2002; Iafigliola, Menten, Racanicci, & Gaiotto, 2000; Jones & Ricke, 2003; Miles, Butcher, Henry, & Littell, 2006; Pedroso, *et al.*, 2006; Thomke & Elwinger, 1998) tendo por isso sido designados “antibióticos promotores do crescimento” (APCs).

Apesar destas qualidades, o seu uso generalizado depressa gerou controvérsia, devido à criação de resistências (Elliott & Barnes, 1959; Starr & Reynolds, 1951). Uma vez que estas resistências podem ser veiculadas, por resíduos antibióticos existentes na carne, ovos e leite ou por permutas de material genético entre bactérias, surgiram receios que a utilização de APCs em produção animal, pudesse ameaçar a eficácia de vários antibióticos utilizados em



medicina humana (World Health Organization [WHO], 2002). Por este motivo, vários governos reagiram, limitando ou proibindo a utilização de antibióticos em doses subterapêuticas (Dibner & Richards, 2005).

Tendo em conta estas preocupações, a constante pressão da Organização Mundial de Saúde no sentido da redução destes produtos (WHO, 2002) e a cada vez maior procura de alimentos isentos de produtos de síntese industrial por parte dos consumidores (Torjusen, Sangstad, Jensen, & Kjærnes, 2004), perspectivou-se um fim anunciado dos APCs.

Contudo, a proibição da utilização dos APCs pode causar graves perdas económicas (Casewell, Friis, Marco, McMullin, & Phillips, 2003) e novas problemáticas ao nível da sanidade animal, como por exemplo, o ressurgimento de doenças do foro intestinal (ex. Enterite necrótica) (Casewell, *et al.*, 2003; Shane, 2005), que até à data não eram motivo de preocupação. Por este motivo, têm sido sugeridas alternativas à utilização dos APCs, como são exemplo: os ácidos orgânicos, as enzimas, os extractos de plantas, as especiarias, os óleos essenciais, os prebióticos e os bacteriófagos, entre muitas outras (Close, 2000; Dahiya, Wilkie, Van Kessel, & Drew, 2006; Revington, 2002).

Entre estas alternativas encontram-se os probióticos: “suplementos alimentares compostos por flora microbiana viva, que afectam benéficamente o hospedeiro melhorando o seu balanço intestinal”(Fuller, 1989).

A proibição dos APCs na União Europeia em 2006 (Regulamento (CE) N° 1831/2003), colocou um novo desafio à avicultura europeia, que veio reforçar, a necessidade da busca de alternativas para estes produtos. Tendo em conta esta situação, pareceu oportuno a elaboração de um relato técnico que focasse a temática dos probióticos. Com esse intuito, elaborou-se uma breve revisão bibliográfica sobre este assunto, onde foi feito o seu enquadramento teórico e prático na realidade avícola actual. Seguidamente, realizou-se um ensaio de campo que foi conduzido em perus, onde se testou o efeito de dois probióticos comerciais, o Aviguard® e o Bioplus2B®, sobre os índices produtivos dos animais.

1.2 - Objectivos

Para o presente trabalho delineou-se o seguinte objectivo:

- Avaliar os benefícios da utilização de probióticos sobre desempenho produtivo de perus de engorda.

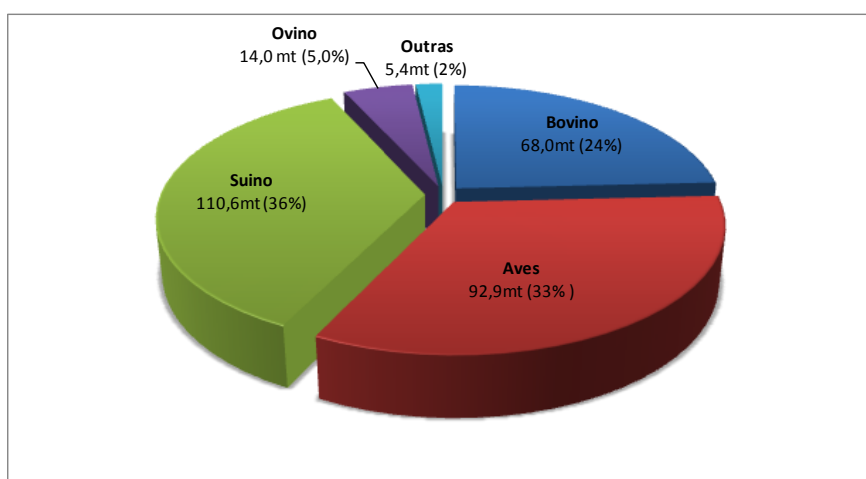


Revisão Bibliográfica

2 - Actualidade e perspectivas futuras da avicultura mundial e portuguesa

Segundo a FAO (2009), estima-se que a produção mundial de carne no ano de 2008 tenha rondado as $280,9 \times 10^6$ toneladas (ton), das quais $92,9 \times 10^6$ ton (33%) provieram de carne de ave e $100,6 \times 10^6$ ton (35,8%) de carne de porco (Figura 5), tendo a avicultura, destacado-se como o segundo sector com maior preponderância na produção mundial de carne.

Figura 5. Produção mundial de carne por espécie (2008)



O mesmo se passa ao nível do consumo, onde a carne de porco ocupou o primeiro lugar das preferências em 2008, seguida pela carne de aves (AVEC, 2009).

No entanto, esta tendência parece estar a inverter-se a favor da carne de aves, principalmente devido aos seus preços mais competitivos, à maior procura de carnes brancas, e ao aumento do seu uso em preparados de carne (FAO, 2007b). Fazendo uma retrospectiva da última década, a avicultura foi o sector pecuário cuja produção mais aumentou, tendo-se verificado um crescimento médio anual na ordem dos 3,7%, superando mesmo o crescimento do sector suinícola (+2,6%) (FAO, 2007a ; AVEC, 2009). O mesmo ocorre ao nível dos consumos, onde carne de ave tem ganho preponderância em relação às outras carnes, não só nos países em vias de desenvolvimento, mas também nos países desenvolvidos, onde foi o único a



apresentar um crescimento significativo (AVEC, 2009). Esta tendência irá provavelmente manter-se ao longo da próxima década, pois segundo a AVEC (2009), espera-se que os sectores avícola e suinícola continuem a evoluir cerca de 2% ao ano, apresentando crescimentos médios ligeiramente superiores aos da bovinicultura e ovinicultura, cujos resultados previstos são respectivamente 1,7% e 1,8%.

Além disso, novas problemáticas tais como a poluição ambiental ou o aumento do preço dos cereais⁴, poderão no futuro dar um novo foco à avicultura, atendendo ao facto de este ser o sistema de produção de carne mais eficiente e sustentável. O relatório anual de 2008 da AVEC evidencia este facto quando refere que “São necessários menos de 2 kg de cereais para produzir 1 kg de carne de frango e 4 para produzir 1kg de carne de porco” e assevera que “Os frangos não emitem metano, além de emitirem menos fosfato e dióxido de carbono que qualquer outro tipo de animal de produção” (AVEC, 2009).

Dentro deste contexto avícola, altamente produtivo, a produção do frango de carne (broiler) é a que tem ganho maior dimensão, principalmente devido ao baixo índice de conversão alimentar e curto ciclo de produção destes animais. Consequentemente, em 2008, 76% do total de carne de aves produzida no mundo proveio destes animais. Por outro lado, a produção de carne de peru, tem um peso bastante menor na carne de aves total, tendo representado, em 2008, apenas 5,6% ($5,2 \times 10^6$ ton) do total mundial. Este facto, está em grande parte relacionado com os altos índices de conversão apresentados por estes animais (AVEC, 2009; FAO, 2009).

Em Portugal o panorama é ligeiramente diferente, apresentando a suinicultura uma posição de maior relevo em relação aos outros sectores da produção de carne. Analisando os dados do Instituto Nacional de Estatística [INE] (2008) correspondentes à quantidade de carne aprovada para consumo em 2007 (Figura 6), verificamos que a produção nacional de carne correspondeu a cerca de 750×10^3 ton, das quais cerca de 49% ($\approx 364 \times 10^3$ ton) foram imputáveis ao sector suinícola, 36% ($\approx 264 \times 10^3$ ton) ao sector avícola e os restantes 15% às outras carnes. Dos 36% correspondentes ao sector avícola, cerca de 15% ($\approx 40 \times 10^3$ ton) corresponderam à carne de peru (INE, 2008).

⁴ A maior procura de biocombustíveis aumentou o preço dos cereais e consequentemente os custos de alimentação na produção animal.



Figura 6. Carne aprovada para consumo em Portugal segundo as espécies (2007)

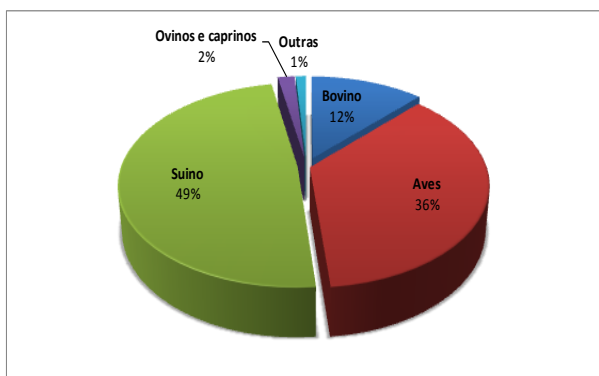
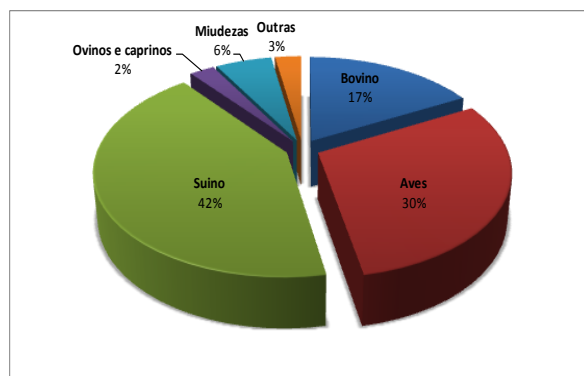


Figura 7. Consumo de carne em Portugal segundo as espécies (2008)



Os hábitos de consumo dos portugueses demonstram também uma marcada preferência pelas carnes de porco e de aves em detrimento das carnes vermelhas e outros tipos de carne. Se observarmos os consumos de carne “*per capita*” em Portugal referentes ao ano de 2008 (Figura 7), verificamos que a espécie suína totalizou um consumo anual de 46,2 kg/hab o correspondente a aproximadamente 42% do total da carne consumida, seguida pelas aves cujo consumo equivaleu a 32,7 kg/hab (aproximadamente 30% do total), e pelos bovinos e pequenos ruminantes com consumos de, respectivamente, 18,8 kg/hab ($\approx 17\%$ do total) e 2,7 kg/hab ($\approx 2\%$ do total) (INE, 2009).

Em contrapartida e em alinhamento com a tendência Mundial, a avicultura portuguesa tem evidenciado nas últimas décadas, um forte e continuado crescimento em termos de volume e de valor para a economia portuguesa. Na última década foi mesmo o sector pecuário que mais cresceu, devido à estabilização do sector suinícola. No futuro, em Portugal tal como no resto do mundo, espera-se que esta tendência se mantenha e que a avicultura ganhe maior preponderância em relação aos outros sectores de produção de carne (INE, 2008 ; INE, 2009).



3 - Antibióticos Promotores do Crescimento

O progresso da pecuária em geral e da avicultura em particular foi, em geral, muito favorecido pela utilização de APCs. Esta evolução iniciou-se por volta de 1950, época em que surgiram os primeiros relatos sobre o efeito promotor de crescimento associado a alguns antibióticos, quando incorporados no alimento dos animais em doses subterâpêuticas (Jukes & Williams, 1953; Murley, Jacobson, & Allen, 1952; Rusoff, Davis, & Alford, 1951).

A partir dessa época, a incorporação destes produtos nos alimentos compostos, popularizou-se rapidamente e, como tal, surgiram inúmeros artigos reportando a sua eficácia na promoção do crescimento e também ao nível da manutenção da sanidade animal (Berrang, *et al.*, 2007; Gaskins, *et al.*, 2002; Iafigliola, *et al.*, 2000; Jones & Ricke, 2003; Miles, *et al.*, 2006; Pedroso, *et al.*, 2006; Thomke & Elwinger, 1998).

Os antibióticos mais utilizados para promoção do crescimento, eram normalmente constituídos por moléculas dificilmente absorvidas a nível intestinal (moléculas de grandes dimensões) não utilizadas na medicina Humana, como por exemplo, a Flavomicina, o Nitrovin, e a Avoporcina. Porém, também foram utilizadas várias moléculas utilizadas na medicina Humana, como por exemplo a Bacitracina e a Lincomicina (não absorvíveis), algumas delas com uma distribuição sistêmica ampla, como por exemplo a Penicilina, a Oxitetraciclina e a Clortetraciclina (Jones & Ricke, 2003).

Segundo a WHO (2002), estima-se que em 2002 metade da produção global de antibióticos tenha-se destinado à incorporação em dietas para animais, o que reflecte o seu uso generalizado.

Embora a descoberta destes produtos tenha sido promissora do ponto de vista da produção, os potenciais riscos associados à sua utilização foram desde cedo assinalados por vários autores. Num estudo conduzido em perus, Starr & Reynolds (1951), relacionaram o aparecimento de um coliforme resistente à Estreptomicina, com a utilização deste antibiótico em doses promotoras do crescimento (subterâpêuticas) na alimentação dos animais. Elliott & Barnes (1959) reforçaram este problema, ao evidenciar que a incorporação de Clortetraciclina, em doses subterâpêuticas num alimento composto para galinhas, conduzia à ocorrência de estirpes de *Streptococcus spp.*, altamente resistentes a esta molécula.

Entretanto, o uso rotineiro de antibióticos criou uma forte pressão selectiva favorável à sobrevivência e proliferação de bactérias resistentes, sendo este fenómeno um exemplo



perfeito da teoria da evolução descrita por Darwin (1901) em *“On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or The Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life”*.

Persistia contudo a ideia de que a diminuição ou interdição do uso de antibióticos, reverteria este problema, dado que, deixaria de existir uma pressão selectiva nesse sentido. Porém, rapidamente, surgiram informações preocupantes, quando Langlois, Cromwell, Stahly, Dawson, & Hays (1983), baniram a utilização de antibióticos num grupo de suínos produzidos em circuito fechado⁵ e verificaram que no final de 126 meses a redução da resistência à Tetraciclina ostentada pelas bactérias entéricas lactose-positivas, era de apenas 50%. Este facto sugeriu, que para além de terem adquirido genes de resistência aos antibióticos, as bactérias, também desenvolveram meios para manter em circulação esses fenótipos (Barbosa & Levy, 2000).

O maior risco associado a esta problemática, está relacionado com o facto de as resistências poderem passar a barreira inter-específica e virem afectar os humanos. Este fenómeno, pode ocorrer por duas vias diferentes:

- Através do consumo de resíduos antibióticos na carne, ovos e leite, que podem promover a indução de resistências nas bactérias do hospedeiro (WHO, 1997 WHO, 2002).
- Pela permuta de bactérias resistentes e genes de resistência entre animais e humanos, uma vez que as bactérias e os seus genes (inclusivamente os da resistência), circulam livremente entre humanos, animais e, outros seres vivos (Apata, 2009; WHO, 1997, WHO, 2002).

Quando as resistências ultrapassam a barreira inter-específica e afectam a espécie humana, constituem um grave risco para a saúde pública, visto que, grande parte dos antibióticos utilizados na medicina veterinária, são também usados em medicina humana (Wegener, 2003; WHO, 2002; Wolfgang, 2000;).

Outro problema atribuído aos antibióticos é o seu impacto ambiental, matéria sobre a qual a informação é surpreendentemente limitada, sendo que actualmente ainda não são conhecidas as suas consequências reais sobre os ecossistemas selvagens. No entanto, uma pesquisa levada

⁵ Não entravam porcos do exterior e o alimento era produzido na exploração ou comprado directamente aos produtores e posteriormente processado na exploração.



a cabo por Santos (2002), revelou que, após 180 dias de compostagem ainda foi possível encontrar antibiótico activo, nas camas das galinhas às quais foi administrado Nitrovin Cloridrato⁶ em doses promotoras de crescimento. Estes dados são francamente preocupantes, pois em muitos países, as camas são utilizadas para fertilizar os campos agrícolas, expondo os ecossistemas locais a doses baixas de antibióticos e assim favorecendo o aparecimento de resistências (Kummerer, 2003). Contudo, também existem bactérias que permanecem sensíveis a doses mínimas de antibióticos e, por isso, vai haver um desequilíbrio dos ecossistemas favorável às bactérias resistentes (Kummerer, 2003). Além da problemática ambiental, existe ainda o risco deste tipo de práticas acentuar as resistências, em humanos e em animais, visto que, as águas subterrâneas são frequentemente utilizadas para consumo.

Face às preocupações crescentes relacionadas com o uso de antibióticos (principalmente a criação de resistências), muitos governos decidiram reagir impondo um vasto leque de restrições e limitações à utilização destes produtos na produção animal. As decisões mais intransigentes, foram tomadas, na Suécia em 1986 (Wierup, 2001), na Dinamarca em 1998 (Dibner & Richards, 2005) onde foi banida a utilização de APCs e também na União Europeia onde primeiro se proibiu a utilização de Avoparcina em 1997 e de Bacitracina, Espiramicina e Virginamicina em 1999 e, por fim, se aboliu a utilização de antibióticos como promotores de crescimento em 2006 (Regulamento (CE) Nº 1831/2003)

Quanto às consequências da abolição dos APCs, não parece haver consenso na comunidade científica, sendo ainda actualmente motivo de um debate aceso.

Tanto Wierup (2001) como Dibner & Richards (2005), relataram que após a proibição dos APCs, na Suécia e na Dinamarca, não se observaram grandes perdas de performance nem de saúde animal no sector avícola. Um dos receios que tinham sido antecipados, estava relacionado com o aumento da incidência de enterite necrótica nos frangos, fenómeno que não se verificou. Pelo contrário, no sector suinícola houve um aumento severo dos problemas clínicos. Em ambos os países, a utilização de antibióticos em doses terapêuticas aumentou numa primeira fase, motivada pela suinicultura, porém, numa segunda fase, voltou a diminuir devido à melhoria do manejo e da biossegurança nas explorações. Actualmente, o consumo de antibióticos na Suécia e na Dinamarca, é significativamente menor e a prevalência de bactérias resistentes aos antibióticos baixou.

⁶ Antibiótico promotor de crescimento.



Em sentido contrário, um artigo publicado por Casewell, Friis, Marco, McMullin & Phillips (2003) denunciou evidentes perdas económicas e uma notável deterioração da saúde animal, nos países onde os APCs foram banidos. Frisaram também, uma ausência de resultados, no que refere à diminuição das resistências antibióticas, após a União Europeia ter proibido, a utilização de Avoparcina (1997) e de Bacitracina, Espiramicina, Tilosina e Virginiamicina (1999), como antibióticos promotores do crescimento.

Além das decisões tomadas por várias entidades governamentais e dos avisos da comunidade científica sobre os riscos do uso antibióticos em larga escala, surge agora, um novo obstáculo aos APCs: um novo padrão de consumidor mais informado e crítico em relação aos alimentos. Actualmente são cada vez mais os consumidores de géneros alimentícios “orgânicos” ou “biológicos”. Segundo Lockie, Lyons, Lawrence & Mummery (2002), este é um mercado em expansão, visto muitas pessoas acreditarem, que estes alimentos são mais saudáveis e ecológicos. Estes autores também defendem que os consumidores receiam alimentos com origem em sistemas intensivos, pois crêem que nestes possam existir produtos de síntese industrial, pesticidas, hormonas, antibióticos ou alterações genéticas⁷, que consideram ser perigosos para a saúde.

Vários estudos realizados na Europa, têm demonstrado que uma das principais preocupações do consumidor, é a presença de resíduos medicamentosos no alimento (Torjusén, *et al.*, 2004). Neste contexto agrícola, onde o uso de produtos de síntese industrial tem uma imagem cada vez mais desgastada aos olhos do consumidor e a utilização de promotores de crescimento antibióticos é desaconselhada pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 2002), são necessárias novas soluções.

4 - Alternativas aos APCs

Após a abordagem da problemática, discutiremos agora as práticas que poderão ser adoptadas com vista a minorar as consequências da não suplementação com APCs e também a utilização de alguns produtos inovadores ou relançados, que poderão constituir uma alternativa aos APCs.

Começando pelas práticas correntes, na opinião de muitos autores a redução dos agentes patogénicos ambientais será, actualmente, uma das soluções mais realistas para este problema

⁷ Organismos geneticamente modificados



(Close, 2000; Dahiya, *et al.*, 2006; Dibner & Richards, 2005; Revington, 2002). Este pensamento, é suportado pela ideia de que a redução do número de bactérias gastrointestinais, melhora o desempenho dos animais. Pressuposto este que é também validado pelo modo acção dos APCs, que promovem o crescimento ao controlarem as populações de bactérias Gram positivas do intestino (Gaskins, *et al.*, 2002) e pela descoberta, que galinhas criadas num ambiente sem germes, obtêm melhores resultados produtivos (Coates, Fuller, Harrison, Lev, & Suffolk, 1963). A redução de agentes patogénicos, deverá assentar essencialmente na biossegurança, através da sanitização e desinfecção das instalações entre os ciclos de produção, da realização do vazio sanitário, do controlo de pragas, na restrição de entradas, etc. (Close, 2000; Dahiya, *et al.*, 2006; Revington, 2002).

Outra estratégia poderá recorrer à formulação das dietas, pois sabe-se que as diferentes propriedades físico-químicas dos alimentos influenciam a índice de conversão alimentar microbiana e a integridade da mucosa intestinal (Apajalahti, Kettunen, Bedford, & Holben, 2001; Hill, *et al.*, 2005). Dahiya (2006), reportou que certos alimentos, como trigo, o centeio e a cevada, por não serem tão digeríveis quanto outros cereais, como o milho, aumentam a viscosidade do conteúdo intestinal, incrementando o seu tempo de trânsito. Um trânsito intestinal mais lento favorece, o desenvolvimento de bactérias patogénicas como o *Clostridium perfringens*.

A imunização é também um campo a explorar. Presentemente, estão a ser investigadas novas vacinas com actuação exclusivamente intestinal, que poderão se úteis no controlo de algumas doenças ocasionadas pela retirada dos APCs. Como exemplo, temos uma vacina recombinante de Salmonela, com genes que codificam antígenos específicos de *Clostridium perfringens* (Kulkarni, Parreira, Sharif, & Prescott, 2008)

No que se refere às “novas” alternativas, o substituto ideal dos APCs deveria:

- Melhorar o desempenho produtivo.
- Ter a capacidade de manter a sanidade animal, porque, no contexto pecuário actual a presença de patologia pode causar graves perdas económicas (Lovland & Kaldhusdal, 2001; Williams, 1999; Yogaratnam, 1995), ou mesmo ser fonte de perigos para a saúde pública (Frenzen, Drake, Angulo, & The emerging infections program foodnet working group, 2005; Galanis, 2007; Shinohara, *et al.*, 2008; Van Immerseel, *et al.*, 2004).



- Ser um produto “biológico”, visto que, os consumidores demonstram preocupações relacionadas com a acumulação de resíduos químicos nos alimentos e procuram cada vez mais este tipo de produtos (Lockie, *et al.*, 2002; Torjusen, *et al.*, 2004).
- Ser economicamente viáveis

Porém, segundo Revington (2002), hoje em dia existem poucas alternativas que apresentem um custo-benefício semelhante aos APCs. Na opinião de Dibner & Richards (2005), dificilmente um único substituto será economicamente viável.

A imunização passiva, apesar de não ser um conceito novo, apresenta actualmente novas perspectivas no combate de algumas doenças importantes para a avicultura e para saúde pública. Tsubokura (1997) concluiu que suplementando o alimento das galinhas com imunoglobulinas provenientes do leite e da gema de ovo, podia-se prevenir eficazmente a infecção intestinal por *Campylobacter jejuni*. Porém, quando o intestino já se encontra infectado os efeitos não são positivos. Recentemente, surgiram relatos da eficácia destes produtos na prevenção de *Escherichia coli* (Elsheikha, Abbas, Aziz, & Elshabiny, 2008) o que pode ser importante, tendo em conta a importância destas doenças para o sector avícola.

Todavia, a produção destes produtos apesar de relativamente simples é muito laboriosa, o que se reflecte no seu custo (Berghman, Abi-Ghanem, Waghela, & Ricke, 2005). No entanto, existem actualmente novas gerações de plantas transgénicas, capazes de sintetizar estes anticorpos em massa, o que pode abrir uma nova perspectiva à utilização destes produtos (Berghman, *et al.*, 2005).

Com os recentes avanços da ciência, surgiu também um novo tipo de alternativa aos antibióticos, os bacteriófagos, que são vírus, capazes de infectar e destruir bactérias (Dahiya, *et al.*, 2006; Joerger, 2003). A sua eficácia já foi comprovada na prevenção e tratamento de *Escherichia coli* patogénica em aves (Huff, Huff, Rath, Balog, & Donoghue, 2005; Huff, Huff, Rath, & Donoghue, 2006). Porém, esta alternativa ainda se encontra longe de estar disponível para utilização industrial.

Contudo, hoje em dia já existem alternativas aos APCs disponíveis a preços razoáveis. Entre elas destacam-se os ácidos orgânicos, principalmente devido à sua actividade antibacteriana nomeadamente contra *Salmonella spp.* (Fernandez-Rubio, *et al.*, 2009; Van Immerseel, *et al.*, 2006), conseguida através da inibição da expressão genética de alguns factores de virulência



desta bactéria (Van Immerseel, *et al.*, 2006). Porém, segundo Biggs & Parsons (2008) muitos destes produtos não têm influência sobre os índices produtivos.

A administração de enzimas exógenas também pode ser benéfica, uma vez que estas melhoram a digestibilidade dos alimentos, reduzindo a viscosidade da ingesta e favorecendo o trânsito intestinal, ao mesmo tempo que reduzem o substrato livre para as bactérias, diminuindo por isso a carga bacteriana no tracto gastrointestinal (Revington, 2002). Um estudo recente realizado em frangos, indicou que a suplementação com um complexo de carbohidrases, melhorou significativamente, o desempenho produtivo dos animais e também atenuou os efeitos negativos da infecção subclínica com *Clostridium perfringens* (Jia, *et al.*, 2009). Ultimamente, têm surgido uma série de produtos designados “fitogénicos”, que são extractos de plantas, especiarias e óleos essenciais, com propriedades antibacterianas, antioxidantes e imunomoduladoras, entre outras, que representem um novo leque de alternativas (Windisch, Schedle, Plitzner, & Kroismayr, 2008). Por exemplo Prakash (2006), constatou a existência de actividade antimicrobiana contra *Escherichia coli* patogénica, em algumas plantas. Foram também evidenciadas, propriedades antiinflamatórias e antioxidantes, em várias plantas sul-africanas, que poderão atenuar as lesões causadas pela coccidiose (Naidoo, McGaw, Bisschop, Duncan, & Eloff, 2008). Um ensaio realizado em poedeiras comprovou que alguma plantas possuem propriedades imunomoduladoras. Entre elas, o alho melhorou a capacidade fagocítica dos macrófagos e o plátano aumentou o número de células fagocitárias circulantes (Dorhoi, Dobrean, Zhan, & Virag, 2006). É contudo de salientar, que muitos dos químicos existentes actualmente, tiveram origem em plantas e outros produtos “naturais”.

Outra alternativa natural são os prebióticos. Estes são definidos por Gibson & Roberfroid (1995) como: “ingredientes nutricionais não digeríveis, que afectam benéficamente o hospedeiro estimulando, a nível intestinal, o crescimento e a actividade de uma ou mais bactérias benéficas que melhoram a saúde do seu hospedeiro”. Os fructoligosacáridos (FOS), a oligofrutose e a inulina são os prebióticos mais utilizados, embora muitos outros estejam também a ser investigados (Patterson & Burkholder, 2003). Alguns destes produtos têm demonstrado a capacidade de melhorar os índices produtivos (Dionizio, Bertechini, Kanjikato, & Teixeira, 2002; Torres-Rodriguez, Higgins, *et al.*, 2007; Xu, Hu, Xia, Zhan, & Wang, 2003; Yusrizal & Chen, 2003), de inibir algumas bactérias patogénicas (Donalson, *et al.*,



2008; Eeckhaut, *et al.*, 2008; Xu, *et al.*, 2003) e de estimular o sistema imunitário (Janardhana, *et al.*, 2009).

Embora por vezes sejam incluídos, indevidamente, no grupo dos prebióticos, os mananoligossacáridos (MOS), têm um mecanismo de acção completamente diferente (Dahiya, *et al.*, 2006; Patterson & Burkholder, 2003). Estes, impedem a adesão dos agentes patogénicos à mucosa intestinal, bloqueando os receptores de adesão (Spring, Wenk, Dawson, & Newman, 2000) e estimulando a imunidade local (Gao, *et al.*, 2008; Gomez-Verduzco, Cortes-Cuevas, Lopez-Coello, Avila-Gonzalez, & Nava, 2009; Oliveira, Figueiredo-Lima, Faria Filho, Marques, & Moraes, 2009). Vários estudos, têm comprovado que estes produtos melhoram o desempenho produtivo dos animais (Benites, Gilharry, Gernat, & Murillo, 2008; Bozkurt, Küçükyilmaz, Çatli, & Çinar, 2008; Sims, Dawson, Newman, Spring, & Hoogell, 2004), e que também são capazes de reduzir, a nível intestinal, a *Salmonella spp.* (Spring, *et al.*, 2000), a *Escherichia coli* (Baurhoo, Phillip, & Ruiz-Feria, 2007; Zdunczyk, Juskiewicz, Jankowski, Biedrzycka, & Koncicki, 2005) e o *Clostridium perfringens* (Hofacre, Beacorn, Collett, & Mathis, 2003).

Os probióticos, que serão abordados em detalhe na próxima secção deste trabalho, são também alternativas possíveis à utilização de APCs.

5 - Probióticos

5.1 - Definição

“Probiótico”, em grego significa “para a vida” (Schrezenmeir & de Vrese, 2001). Este termo antagónico de “antibiótico”, foi originalmente utilizado por Lilly & Stillwell (1965) designando “substâncias secretadas por microrganismos que estimulam o crescimento de outros”. Contudo, foi Parker em 1965 (citado por Fuller, 1995) o primeiro a usar a palavra com um sentido aproximado ao de hoje: “organismos e substâncias que contribuem para o balanço intestinal”. Esta definição foi mais tarde modificada por Fuller (1989) passando a designar: “suplementos alimentares compostos por flora microbiana viva, que afectam benéficamente o hospedeiro melhorando o seu balanço intestinal”. Este autor, ao excluir a palavra “substâncias” da definição proposta por Parker, cingiu este termo a produtos compostos por microrganismos, excluindo assim a possibilidade de serem incluídos alguns



antibióticos (ex. APCs). Porém, ainda não englobava os efeitos dos probióticos sobre outras microfloras além da intestinal, como por exemplo a da vagina ou a do tracto respiratório. Por isso, Havenaar & Huis in't Veld (1992) (citado por Edens, 2003) sugeriram uma nova definição: "culturas vivas de um ou vários microrganismos, que ao serem aplicadas a homens ou animais lhes proporcionam benefícios ao melhorar as características da sua microflora indígena." Mais tarde, Schrezenmeir & de Vrese (2001) lembraram que a microflora deveria ser viável, e adiantaram que deveria ser considerado um probiótico qualquer preparação ou produto contendo microflora viável e definida, em número suficiente para alterar a microflora do hospedeiro melhorando a sua saúde. Não sendo fácil definir o termo "probiótico" importa reter contudo, o facto de serem constituídos por flora microbiana viva que vai exercer efeitos benéficos sobre o hospedeiro.

5.2 - História

O primeiro a fazer referência a estes produtos foi Eliè Metchnikoff (1907) no início do século passado, quando na sua obra "Essais optimistes" referiu os efeitos benéficos, a nível intestinal, resultantes da utilização de um fermento lácteo, isolado de iogurtes, que continha *Bacillus bulgare*. Também nesta obra, salientou que num ensaio levado a cabo pelo seu colega Belononsky, se verificou que a administração de *Bacillus bulgare* a murganhos prevenia e curava uma doença intestinal destes animais e incrementava o seu crescimento e prolificidade (Metchnikoff, 1907).

Na década cinquenta, Freter (1956), descreveu um fenómeno chamado "antagonismo bacteriano", quando ao administrar *Escherichia coli* a porcos da índia, verificou que era conferida protecção contra a cólera entérica. Mais tarde, descobriu-se "*in vitro*", que adição de conteúdo fecal fresco ao meio de cultura, inibia o desenvolvimento de *Salmonella enteriditis* (Bohnhoff, Miller, & Martin, 1964).

Os primeiros a abordar o tema no âmbito da avicultura, foram Rantala & Nurmi (1973) que conseguiram evitar a infecção de *Salmonella infantis* em pintos ao lhes administrarem flora intestinal de galinha adulta. Mais tarde, este efeito protector ficou conhecido por "exclusão competitiva" ou "conceito de Nurmi" (Edens, 2003).

Desde então, a administração de conteúdo cecal de galinhas adultas, tem-se mostrado eficaz na redução de algumas bactérias patogénicas como por exemplo a *Salmonella spp.* (Al-Zenki,



et al., 2009; Hofacre, Primm, Vance, Goodwin, & Brown, 2000; Nakamura, *et al.*, 2002) ou o *Clostridium perfringens* (Hofacre, Froyman, George, Goodwin, & Brown, 1998). No entanto, coloca-se o problema da transmissão de agentes patogénicos, no caso de as galinhas dadoras estarem infectadas. Este problema, foi minimizado ao ser cultivada “*in vitro*”, microflora cecal de galinhas SPF (Specific pathogen free) (Fuller, 2001).

Posteriormente aos estudos desenvolvidos por Rantala & Nurmi (1973), foram feitas várias tentativas para isolar, culturas intestinais de aves adultas, com microbismos definidos (Impey, Mead, & George, 1982; Schoeni & Wong, 1994) ou indefinidos (Gleeson, Stavric, & Blanchfield, 1989; Impey, *et al.*, 1982) que tivessem propriedades probióticas. Na sua maioria as pesquisas centraram-se nas bactérias lácticas ou em bactérias similares (ex. *Bifidobacterium*), todavia também se descobriram outras bactérias intestinais com efeitos probióticos. O trabalho desenvolvido neste campo, fomentou um aprofundamento do conhecimento da microflora intestinal das aves adultas (Fuller, 2001).

Na última década, os probióticos de culturas definidas têm ganho maior preponderância, tendo sido estudados, extensivamente, por vários autores (Hollister, Corrier, Nisbet, & DeLoach, 1999; Kim, *et al.*, 2007; Mountzouris, *et al.*, 2007; Schneitz, Kiiskinen, Toivonen, & Nasi, 1998; Timmerman, Veldman, van den Elsen, Rombouts, & Beynen, 2006). Hoje em dia, existem produtos comerciais com 28 (Hollister, *et al.*, 1999) e até com 32 (Schneitz, *et al.*, 1998), estirpes diferentes de bactérias.

Para além de culturas de conteúdo intestinal, também têm sido estudados microrganismos externos. Entre eles, encontram-se várias estirpes de *Bacillus spp.* (Alexopoulos, *et al.*, 2004; Chen, *et al.*, 2009; Fritts, *et al.*, 2000; Hooge, Ishimaru, & Sims, 2004; Teo & Tan, 2006; Vila, *et al.*, 2009)) e algumas leveduras e fungos (Al-Zenki, *et al.*, 2009; Chen, *et al.*, 2009; Dizaji & Piromohammadi, 2009; S. H. Lee, *et al.*, 2007; Mountzouris, *et al.*, 2007), contudo, estes normalmente não colonizam o intestino, tendo que ser administrados de modo contínuo no alimento (Fuller, 2001).

Actualmente, sabe-se que os probióticos não têm apenas alguns efeitos protectores contra certos agentes, devido à exclusão competitiva, mas também exibem um complexo modo de actuação, que interfere a vários níveis com organismo, influenciando por exemplo, o sistema imunitário (Haghighi, *et al.*, 2005; Haghighi, *et al.*, 2006; Isolauri, Sutas, Kankaanpaa, Arvilommi, & Salminen, 2001; S. P. Li, Zhao, & Wang, 2009; Loa, *et al.*, 2001), a actividade enzimática (Jin, Ho, Abdullah, & Jalaludin, 2000; Mountzouris, *et al.*, 2007), a morfologia



microscópica do intestino (Chichlowski, Croom, Edens, *et al.*, 2007; Rahimi, Grimes, Fletcher, Oviedo, & Sheldon, 2009) e até o metabolismo (Chichlowski, Croom, McBride, *et al.*, 2007), beneficiando o estado sanitário e a produtividade do seu hospedeiro.

5.3 - Microflora intestinal das aves

Inicialmente, o tracto gastrointestinal é estéril, porém, a sua colonização começa logo após a eclosão quando o pinto estabelece contacto com microrganismos da casca do ovo e do ambiente externo (Amit-Romach, Sklan, & Uni, 2004; Fleming, 2008). A partir deste período, a microflora vai-se estabelecendo e, as bactérias mais bem adaptadas a cada local do intestino, proliferam em detrimento das menos adaptadas. Esta selecção, também é em parte determinada pela predisposição genética do hospedeiro, em adquirir tolerância imunitária, apenas em relação a alguns microrganismos (Apajalahti, 2005). Na verdade, o organismo hospedeiro tende a eliminar bactérias patogénicas, como algumas *Escherichia coli* ou o *Clostridium perfringens* e também aquelas cujo metabolismo resulta em produtos tóxicos, como as bactérias putrefactoras ou as que fermentam proteínas (Apajalahti, 2005). Assim sendo, a colonização do tracto gastrointestinal passa por várias etapas, demorando cerca de 30 dias a estabelecer-se a microflora adulta típica (Amit-Romach, *et al.*, 2004).

Nas primeiras horas após a eclosão, o microbismo é essencialmente composto por bactérias anaeróbias que degradam o ácido úrico (Mead & Adams, 1997 citado por Amit-Romach, *et al.*, 2004). Depois, até aos quatro dias, o tracto gastrointestinal é predominantemente colonizado por *Streptococcus spp.* e enterobactérias (família *Enterobacteriaceae*) (Amit-Romach, *et al.*, 2004) (Tabela 1). A partir dos 4 dias, começa a desenvolver-se no intestino delgado uma microflora predominantemente láctica e anaeróbia-facultativa, que se torna progressivamente, a microflora dominante desta secção do intestino (Amit-Romach, *et al.*, 2004; Lu, *et al.*, 2003; Salanitro, Blake, Muirhead, Maglio, & Goodman, 1978). Segundo Lu (2003), numa galinha adulta 70% da microflora ileal é representada por *Lactobacillus*, enquanto que a restante microflora, pertence essencialmente à família *Clostridiaceae* (11%) e aos géneros *Streptococcus spp.* (6,5%) e *Enterococcus spp.* (6,5%) (Tabela 1).



Tabela 1. Filo, família e género das bactérias mais representativas do tracto gastrointestinal das aves adultas.

Filo	Família	Géneros
Firmicutes (gram positivas, baixo G+C) *	<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus spp.</i>
	<i>Clostridiaceae</i>	<i>Clostridium spp.</i> <i>Eubacterium spp.</i> <i>Bacillus spp.</i>
	<i>Staphylococcaceae</i>	<i>Staphylococcus spp.</i>
	<i>Streptococcaceae</i>	<i>Streptococcus spp.</i>
	<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus spp.</i>
Actinobacteria (gram positivas, alto G+C) *	<i>Fusobacteriaceae</i>	<i>Fusobacterium spp.</i>
	<i>Bifidobacteriaceae</i>	<i>Bifidobacterium spp.</i>
Proteobacteria (gram negativas)	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Salmonella spp.</i>
	<i>Campylobacteraceae</i>	<i>Campylobacter spp.</i>
<u>Bacteroidetes</u> (gram negativas)	<u>Bacteroidaceae</u>	<i>Bacteroides spp.</i>

* Baixo G+C = Bactérias cujo DNA tem menos Guaninas e Citosinas que Adenosinas e Tirosinas

* Alto G+C = Bactérias cujo DNA tem mais Guaninas e Citosinas que Adenosinas e Tirosinas.

Ao contrário do intestino delgado, o ceco é um local de fermentação e, por isso, concentra a maior parte das bactérias do tracto gastrointestinal das aves (Apajalahti, 2005). Este segmento intestinal apresenta, aos 4 dias, uma microflora composta essencialmente por microrganismos anaeróbios estritos e facultativos, distinguindo-se entre eles maioritariamente, bactérias da família *Clostridiaceae* (15% a 55%), *Lactobacillus* (25%) e proteobactérias (10% a 73%) (Amit-Romach, *et al.*, 2004; Lu, *et al.*, 2003) (Tabela 1). Aos 14 dias, a microflora anaeróbia ainda está a proliferar e, a família *Clostridiaceae*, representa cerca de 60% da microflora cecal, enquanto que, as proteobactérias representam pouco mais de 10% (Lu, *et al.*, 2003) (Tabela 1). A partir desta altura, as alterações dão-se mais lentamente, até que a microflora se estabiliza entre os 30 e os 50 dias. Nesta altura, cerca de 70% das bactérias do ceco, pertencem à família *Clostridiaceae*, enquanto que, apenas 10% são proteobactérias,



encontrando-se também, alguns *Lactobacillus spp.* e *Bacterioides spp.* (Lu, *et al.*, 2003; Zhu, Zhong, Pandya, & Joerger, 2002) (Tabela 1).

A microflora de uma ave adulta é maioritariamente Gram positiva, embora seja, essencialmente anaeróbia facultativa no intestino delgado (ex. *Lactobacillus spp.*) e anaeróbia estrita no ceco (ex. Clostridiáceas).

Esta comunidade bacteriana, além de oferecer protecção contra várias doenças do foro intestinal, também permite, que os animais façam uma melhor utilização dos alimentos (Ahmad, 2006; Apajalahti, 2005). Contudo, entre outras causas, bastam pequenas alterações alimentares ou ambientais, para destabilizar esta microflora, tornando o hospedeiro susceptível à doença e comprometendo a eficaz utilização dos alimentos (Apajalahti, 2005; Fuller, 1989; Rolfe, 2000).

Porém, nos moldes de produção actuais, a colonização intestinal é bastante mais difícil, uma vez que, os pintos do dia nunca chegam a contactar com animais adultos e, que os procedimentos de biossegurança, normalmente levados a cabo, acabam por produzir ambientes relativamente desprovidos de bactérias. Procedimentos como a lavagem e a desinfecção dos pavilhões e o vazio sanitário, reduzem grandemente a carga bacteriana existente nos mesmos. Este facto, aliado à desinfecção dos ovos nas incubadoras, que elimina os microrganismos existentes na casca, leva a que, o ambiente com o qual os animais contactam durante as fases iniciais do seu desenvolvimento, seja quase estéril, o que vai dificultar ou atrasar a colonização bacteriana do intestino. Tendo em conta este aspecto, a utilização de probióticos pode significar uma mais-valia, visto que, com a sua administração é possível facultar microflora intestinal desejada e proporcionar uma colonização rápida e eficaz.

5.4 - Composição dos probióticos, vias de administração e atributos

5.4.1 - Composição

Como foi referido atrás, os probióticos são constituídos por microrganismos vivos e viáveis (Schrezenmeir & de Vrese, 2001), normalmente presentes no tracto gastrointestinal ou por vezes, de vida exterior (ex. *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*). Estes podem ser



constituídos por: culturas indefinidas em que nem todos os seus microrganismos são conhecidos, ou culturas definidas, nas quais a sua composição é completamente conhecida.

Culturas indefinidas:

- Preparados de conteúdo cecal fresco (Hofacre, *et al.*, 2000)
- Preparados de conteúdo cecal liofilizado (ex. Aviguard[®])
- Culturas de microflora intestinal seleccionada “*in vitro*” (Bielke, *et al.*, 2003; Cox, Bailey, & Stern, 2001)

Culturas definidas:

- De microrganismos normalmente presentes no tracto gastrointestinal:
 - Bactérias lácticas (Carli, 2006; Garfias, González, Castro, Rodríguez, & Ramírez, 2003; Kim, *et al.*, 2007; Mountzouris, *et al.*, 2007; Timmerman, *et al.*, 2006; Torres-Rodriguez, Donoghue, *et al.*, 2007; Vicente, Wolfenden, *et al.*, 2007; Wolfenden, *et al.*, 2007)
 - Mistas (Hollister, *et al.*, 1999; Schneitz & Hakkinen, 1998; Schneitz, *et al.*, 1998)
 - Outros (ex. *Enterococcus* (Awad, Ghareeb, & Böhm, 2008; Kačániová, Petrová, Haščík, Čuboň, & Pavličová, 2006))
- De microrganismos de vida exterior (normalmente não presentes no tracto gastrointestinal):
 - *Bacillus spp.* (Cardozo, 2006; Hong, Duc, & Cutting, 2005; S. P. Li, *et al.*, 2009; Teo & Tan, 2006; Vila, *et al.*, 2009)
 - Leveduras (Chen, *et al.*, 2009; S. H. Lee, *et al.*, 2007; Mountzouris, *et al.*, 2007)
 - Outros (Fuller, 2001)
- De ambos os tipos (Mountzouris, *et al.*, 2007)



5.4.2 - Via de administração

O primeiro objectivo ao administrar um probiótico, é que, os seus microrganismos cheguem viáveis e em número suficiente ao local de actuação (Schrezenmeir & de Vrese, 2001). Com esse objectivo têm sido utilizadas várias estratégias, embora as mais vulgarmente referidas sejam:

- A incorporação directa no alimento (Cardozo, 2006; Grimes, Rahimi, Oviedo, Sheldon, & Santos, 2008; Maiorka, Santin, Sugeta, Almeida, & Macari, 2001; Vila, *et al.*, 2009; Yang, Iji, & Choct, 2009),
- Administração em cápsulas (gelatinosas) misturadas com o alimento (Corrier, *et al.*, 1994; Fuller, 1995; Silva & Pinheiro, 2008),
- Na água de bebida (Corrier, *et al.*, 1994; Timmerman, *et al.*, 2006; Wolfenden, *et al.*, 2007),
- Por aspersão e nebulização (dos animais e do meio) de uma suspensão de probiótico (Al-Zenki, *et al.*, 2009; Hofacre, *et al.*, 2000; Wolfenden, *et al.*, 2007),
- Via endoesofágica (Corrier, *et al.*, 1994; Hofacre, *et al.*, 2000; Nakamura, *et al.*, 2002)
- Administração “*in ovo*” (Andreatti Filho, Okamoto, Lima, Gratão, & DelBem, 2006; Edens, Parkhurst, Casas, & Dobrogosz, 1997)

A incorporação no alimento, a diluição na água de bebida e a aspersão, são os processos mais frequentemente utilizados no campo, principalmente devido ao facto de serem bastante práticos e também eficazes (Corrier, *et al.*, 1994; Hofacre, *et al.*, 2000; Wolfenden, *et al.*, 2007). A via endoesofágica também é bastante eficaz (Corrier, *et al.*, 1994; Hofacre, *et al.*, 2000), embora não seja praticável ao nível da produção.

Quanto à administração de probiótico encapsulado, Corrier (1994) demonstrou não ser tão eficaz como os métodos anteriores.

A administração “*in ovo*” ainda não está disponível comercialmente, mas os resultados obtidos, têm demonstrado ser uma técnica igualmente eficaz (Andreatti Filho, *et al.*, 2006; Edens, *et al.*, 1997). Se isso se confirmar, dependentemente da sua viabilidade económica, pode no futuro vir a ser largamente utilizada.



Em relação à dose a administrar, Bielke (2003), demonstrou que o efeito não é dependente da dose, bastando atingir-se a dose mínima para que o probiótico seja funcional (Simon, 2005). O mesmo autor, também reportou efeitos contraproducentes ao ser administrada uma dose 100 vezes superior à mínima. Assim sendo, deverá ser definida a dose da administração de cada probiótico, tendo em conta o número de microrganismos viáveis que chegam ao intestino e a sua capacidade de o colonizar (Saavedra, 2001).

5.4.3 - Atributos desejáveis

Dependendo do tipo de microrganismos de que é constituído, cada probiótico apresenta características exclusivas. Na Tabela 2, estão esquematizadas algumas das características desejáveis num probiótico.

As maiores diferenças, são normalmente observadas entre os probióticos que contêm microrganismos normais da microflora gastrointestinal e os que contêm microrganismos de vida exterior. Os microrganismos com vida exterior, são normalmente mais resistentes e, em condições extremas, conseguem produzir esporos extremamente resistentes (Hong, *et al.*, 2005; Simon, 2005). Simon (2005), verificou que cerca de 92% dos esporos do *Bacillus cereus totoy* permaneciam viáveis num alimento composto que fora anteriormente granulado a 87°C e armazenada durante 8 semanas. Contudo, como foi atrás referido, muitos destes não colonizam o tracto gastrointestinal, tendo que ser administrados de modo contínuo (Fuller, 2001).

O mesmo autor, ao expor um *Enterococcus faecium* ao mesmo processo, apurou que apenas 35% dos microrganismos permaneceram viáveis após a granulação e que apenas 18% permaneciam viáveis após 8 semanas de armazenamento. No entanto, como este microrganismo coloniza facilmente o tracto GI, basta uma única administração deste probiótico na água de bebida (Timmerman, *et al.*, 2006; Wolfenden, *et al.*, 2007) ou por pulverização (Al-Zenki, *et al.*, 2009; Hofacre, *et al.*, 2000; Wolfenden, *et al.*, 2007), para que este seja eficaz.

**Tabela 2.** Características desejáveis num probiótico

Atributos desejáveis	Autores
Resistência ao processamento do alimento composto	(Edens, 2003; Simon, 2005)
Estabilidade em armazenamento	(Conway, 1996; Edens, 2003; Patterson & Burkholder, 2003; Simon, 2005)
Resistência aos ácidos gástricos e bÍlis	
Inocuidade	(Conway, 1996; Edens, 2003; Patterson & Burkholder, 2003)
Estabilidade de características	
Colonização do tracto GI	
Persistência no tracto GI	
Promoção protecção contra doenças	(Edens, 2003; Patterson & Burkholder, 2003)
Ação benéfica sobre a microflora	
Dose / eficácia	(Conway, 1996)

5.5 - Mecanismos de acção

5.5.1 - Exclusão competitiva

O termo “exclusão competitiva”, foi inicialmente empregue por Hardin (1960), que utilizou esta designação para salientar o facto de duas espécies com nichos ecológicos iguais não poderem coexistir, porque uma delas se multiplica mais rapidamente que a outra, acabando por eliminá-la. No entanto, os primeiros a utilizar este termo na avicultura foram Rantala e Nurmi (1973).

Em avicultura, a “exclusão competitiva” consiste basicamente na introdução de microflora intestinal adulta em animais jovens, inibindo outros agentes (ex. patogénicos), de colonizarem um ambiente (tracto gastrointestinal) previamente ocupado por essa flora probiótica (Revolledo, Ferreira, & Mead, 2006). Esta inibição, é conseguida pela actuação conjunta de



vários mecanismos normalmente utilizados pelos microrganismos para competir por um nicho ecológico.

De acordo com Freter (1992) (citado por Schrezenmeir & de Vrese, 2001), no tracto gastrointestinal existem quatro microhabitats: a superfície das células epiteliais, as criptas do íleo, do cólon e do ceco, o muco que recobre a mucosa intestinal e o próprio lúmen intestinal. Os microrganismos que colonizam as superfícies epiteliais, sejam eles patogénicos ou não, ligam-se a locais específicos da mucosa intestinal através das suas fímbrias, para não serem arrastados durante o processo da digestão (Clegg & Gerlach, 1987; Conway, Gorbach, & Goldin, 1987; Finlay & Falkow, 1989; Schrezenmeir & de Vrese, 2001). Um dos mecanismos da “exclusão competitiva” assenta no facto, de as bactérias probióticas competirem pelos locais (receptores) de ligação disponíveis, impedindo que as bactérias patogénicas adiram ao intestino (Dahiya, *et al.*, 2006; Y. K. Lee, *et al.*, 2000; Rolfe, 2000; Schrezenmeir & de Vrese, 2001). Num trabalho desenvolvido por Y. K. Lee (2000), onde se testou “*in vitro*” a eficácia de duas estirpes probióticas de *Lactobacillus spp.*, contra uma *Escherichia coli* patogénica, concluiu-se que, os *Lactobacillus spp.*, quando administrados em quantidades suficientes, ocupavam gradualmente os locais de ligação da *Escherichia coli* acabando por substituí-la. Porém, quando a administração de probiótico cessava, a colonização da mucosa revertia-se rapidamente a favor da *Escherichia coli*. No entanto, “*in vivo*”, existem alguns factores que podem contrariar esta situação. Fuller (2001), salienta que o papo pode ser precocemente colonizado por algumas estirpes de *Lactobacillus spp.*, que aderem muito fixamente a este órgão, produzindo numa microflora estável e resistente, que coloniza continuamente o tracto gastrointestinal inferior.

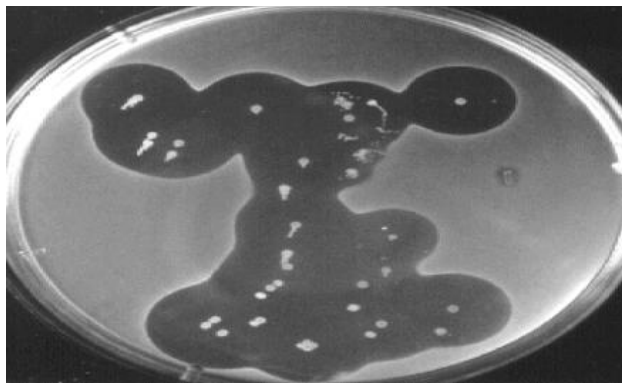
Além da competição pelos locais de ligação, pensa-se também, que as bactérias veiculadas pelo probiótico competem por alguns dos nutrientes existentes no lúmen intestinal. Embora este mecanismo ainda não esteja bem esclarecido, tem sido referido por vários autores (Dahiya, *et al.*, 2006; Edens, 2003; Rolfe, 2000).

Outro mecanismo inibitório, das bactérias probióticas, é a produção de substâncias com propriedades bacteriostáticas ou bactericidas. Entre estas substâncias, destacam-se os ácidos orgânicos (ex. ácido láctico), os ácidos voláteis, o peróxido de hidrogénio, as bacteriocinas (Figura 8) e as enzimas (Dahiya, *et al.*, 2006; Rolfe, 2000; Schulz, Bonelli, & Batista, 2005). Estes compostos, devido às suas propriedades inibitórias, ou por condicionarem as características do meio (ex. baixar o pH), podem reduzir o número de agentes patogénicos



presentes, ou atenuar alguns dos seus factores de patogenecidade, como por exemplo, o metabolismo de produção de toxinas (Rolfe, 2000).

Figura 8. Aura de inibição provocada por bacteriocinas



Colónias de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* DPC3147 mostrando auras de inibição devidas à presença da bacteriocina lacticina 3147. Adaptado de <http://www.teagasc.ie/research/reports/dairyproduction/4207/eopr-4207.asp>

Recentemente, tem-se dado muita atenção às bacteriocinas. Estas, são constituídas por péptidos com actividade antimicrobiana contra espécies próximas à do organismo que as produz (McMullen, 2000). Têm-se descoberto, várias bactérias capazes de produzir estes péptidos (Pattnaik, Kaushik, Grover, & Batish, 2001; Schulz, *et al.*, 2005; Teo & Tan, 2005), e alguns deles, têm-se mostrado extremamente promissores, para a utilização com fins probióticos. Teo & Tan (2005), descobriram uma estirpe de *Bacillus subtilis* que, ao possuir factores anticlostridiais, conseguia inibir várias estirpes de *Clostridium perfringens* associadas à enterite necrótica.

Não obstante, McMullen (2000) destacou que as bacteriocinas têm um curto espectro de acção. Assim sendo, as bacteriocinas produzidas pelas bactérias que normalmente constituem os probióticos (Gram positivas) teriam, na melhor das hipóteses, um largo espectro de actuação contra outras Gram positivas. Porém, dificilmente afectariam bactérias Gram negativas como a *Salmonella spp.* ou a *Escherichia coli* (McMullen, 2000). Novas pesquisas, têm indicado que é possível inserir genes em bactérias Gram positivas, permitindo-lhes produzir bacteriocinas características de bactérias Gram negativas e com actividade contra estas (McCormick, Klaenhammer, & Stiles, 1999). Esta tecnologia, permite libertar as substâncias activas contra as bactérias alvo, localmente e, sem qualquer tipo de risco associado como a criação de resistências (McMullen, 2000).



5.5.2 - Imunomodulação

A microflora intestinal, além de promover a “exclusão competitiva”, também tem um papel importante no desenvolvimento, do sistema linfático associado à mucosa intestinal e na resposta imunitária, local e sistémica (Chichlowski, Croom, McBride, *et al.*, 2007; Haghighi, *et al.*, 2005; Haghighi, *et al.*, 2006; Isolauri, *et al.*, 2001; S. P. Li, *et al.*, 2009; Rolfe, 2000).

Existem componentes da parede celular das bactérias, que têm propriedades imunoestimulantes (Hamann, EL-Samalouti, Ulmer, Flad, & Rietschel, 1998). Por isso, ao controlarmos a microflora intestinal, podemos indirectamente influenciar a resposta imunitária do hospedeiro. Por esse motivo, tem-se sugerido a utilização de probióticos com fins imunomoduladores.

Actualmente, conhecem-se alguns probióticos cujos efeitos benéficos sobre o hospedeiro, são em parte derivados da sua actuação sobre o sistema imunitário. Eles actuam em três níveis: sobre a imunidade não específica, sobre a imunidade específica e sobre a resposta inflamatória (Isolauri, *et al.*, 2001). Estimulam a imunidade não específica a nível local, favorecendo a maturação das células linfáticas e das células apresentadoras de antígenos (por estimulação antigénica) o que melhora a produção de mediadores inflamatórios; activam os macrófagos e, por fim, também favorecem a fagocitose (Chichlowski, Croom, McBride, *et al.*, 2007; Haghighi, *et al.*, 2005; Isolauri, *et al.*, 2001). Por outro lado, também estão descritos efeitos inibitórios que, ao reduzirem as reacções alérgicas por hipersensibilidade (Isolauri, *et al.*, 2001), acabam por ter um efeito regulador sobre este sistema.

Quanto à resposta imunológica sistémica, vários autores estão de acordo de que estes produtos favorecem a produção de imunoglobulinas específicas contra alguns antígenos, tanto a nível local (IgA) como sérico (IgM e IgG) (Haghighi, *et al.*, 2005; Haghighi, *et al.*, 2006; Isolauri, *et al.*, 2001; S. P. Li, *et al.*, 2009). Uma das razões apontadas para explicar o sucedido, é que a microflora probiótica pode contribuir de alguma forma para o processamento dos antígenos (Isolauri, *et al.*, 2001). Segundo Isolauri *et al.* (2001), alguns probióticos terão ainda capacidade de regular a resposta inflamatória, reduzindo a inflamação a nível intestinal e por isso promovendo a integridade da mucosa e o equilíbrio da microflora. Outro aspecto que se encontra actualmente em estudo é o efeito dos probióticos na translocação dos agentes patogénicos, visto que, aparentemente influenciam a passagem destes microrganismos através



das mucosas, o que poderá ser um ponto de interesse no controlo de algumas doenças (de los Santos & Gil-Turnes, 2005).

5.5.3 - Acção sobre a digestão e absorção de nutrientes

Tem-se posto a hipótese, de os probióticos alterarem a microflora intestinal, modificando algumas actividades enzimáticas a nível intestinal de forma vantajosa para o hospedeiro (Jin, *et al.*, 2000). No entanto, alguns autores têm verificado modificações nas actividades enzimáticas, sem que hajam alterações significativas da microflora intestinal (Jin, Ho, Abdullah, & Jalaludin, 1998; Mountzouris, *et al.*, 2007). Não obstante, tem-se observado que a suplementação com probióticos, aumenta a actividade específica de algumas enzimas bacterianas fundamentais para a fermentação dos carboidratos indigeríveis (Mountzouris, *et al.*, 2007) e que, por outro lado, diminui a actividade de algumas enzimas bacterianas cujo produto final são metabólitos, nocivos ao organismo, ou que dificultam a eliminação de substâncias tóxicos (Jin, *et al.*, 2000).

5.5.4 - Outros mecanismos de acção

Existem ainda outros mecanismos de acção descritos na literatura, como por exemplo, a degradação dos receptores intestinais para as toxinas (Rolfe, 2000) e alterações metabólicas (Chichlowski, Croom, McBride, *et al.*, 2007) e microestruturais ao nível do intestino (Chichlowski, Croom, Edens, *et al.*, 2007; Rahimi, *et al.*, 2009), que são benéficas para o hospedeiro.

No que se refere às alterações metabólicas, Chichlowski *et al.* (2007), verificaram que, a administração de um probiótico contendo bactérias lácticas a frangos de carne, diminuiu o consumo de oxigénio a nível íleal e global, que presumiram ser devido a uma diminuição dos gastos energéticos. Assim sendo, supuseram que a administração de probióticos poderia promover um aumento da eficiência energética dos animais, através de mecanismos ainda não compreendidos, possivelmente relacionados com alterações da função intestinal e hepática e com alterações imunológicas a nível intestinal.

Ao nível da microestrutura intestinal, alguns estudos utilizando probióticos verificaram que, nos animais tratados, havia um incremento da espessura da mucosa devido ao aumento da altura e da espessura das vilosidades (Chichlowski, Croom, Edens, *et al.*, 2007; Rahimi, *et al.*,



2009). Noutros estudos, observou-se também um aumento do número e do tamanho das células caliciformes (Rahimi, *et al.*, 2009) e uma diminuição da espessura da camada de muco (Chichlowski, Croom, Edens, *et al.*, 2007). Segundo alguns autores, a melhoria dos índices produtivos (Rahimi, *et al.*, 2009) e a capacidade de prevenir doenças (Chichlowski, Croom, Edens, *et al.*, 2007), também podem estar relacionadas com estas alterações ultra-estruturais.

5.6 - Factores que influenciam a eficácia dos probióticos

Analisando a literatura, observamos que os resultados obtidos pela utilização de probióticos são bastante incoerentes (Close, 2000; Fuller, 2001; Simon, 2005), principalmente em relação ao desempenho produtivo. Resumindo as observações de alguns autores sobre a influência de vários probióticos no desempenho produtivo dos animais, reparamos que uns verificam um efeito positivo (Abdollahi, Kamyab, Bazzazzadekan, Nik-Khah, & Shahneh, 2003; Cardozo, 2006; Hooge, *et al.*, 2004; Rahimi & Khaksefidi, 2006; Šabatková, Kumprecht, Zobač, Suchý, & Čermák, 2008; Torres-Rodriguez, Donoghue, *et al.*, 2007; Vicente, Wolfenden, *et al.*, 2007), enquanto outros não observam qualquer efeito (Al-Zenki, *et al.*, 2009; Chen, *et al.*, 2009; Maiorka, *et al.*, 2001; Mutus, *et al.*, 2006; Pedroso, *et al.*, 2003).

Esta variabilidade dos dados, pode ser devida a factores relacionados com:

- O produto e seu fabrico: tipo de organismo que se utiliza, método de produção do probiótico e viabilidade após a preparação (Fuller, 1995)
- Factores de manejo ou ambientais: via de administração (Corrier, *et al.*, 1994), precocidade da administração (Wolfenden, *et al.*, 2007), condições higiénicas da exploração (Rahimi & Khaksefidi, 2006; Timmerman, *et al.*, 2006; Torres-Rodriguez, Donoghue, *et al.*, 2007),
- Utilização de antibióticos (Edens, 2003)
- Da combinação com prebióticos, visto que alguns possuem um efeito sinérgico (Haghighi, *et al.*, 2005; Vicente, Higgins, *et al.*, 2007)



Avaliação da eficácia dos produtos Aviguard® e Bioplus2B® em perus de engorda (*Meleagris gallopavo*) numa situação de campo

6 - Material e métodos

Neste estudo foi avaliada a influência dos probióticos Aviguard® (Microbial Developments Ltd., Worcestershire, United Kingdom) e Bioplus2B® (CHR Hansen, Hørsholm, Denmark), no desempenho produtivo de perus de engorda, numa situação comercial de produção (ensaio de campo).

6.1 - Instalações

O ensaio foi realizado numa exploração localizada em Ferreira do Zêzere (Concelho de Tomar), destinada à engorda de perus em sistema de produção intensivo. Esta era composta por três pavilhões similares entre si, de alvenaria e com 100 m de comprimento e 12 m de largura, totalizando uma área de 1200 m². Todos os pavilhões eram divididos transversalmente por uma rede metálica, que servia para separar as aves de sexos diferentes⁸.

As instalações possuíam ambiente controlado, sendo que para o efeito, dispunham de um sistema de aquecedores a gás e janelas de abertura/fecho automático controladas por uma sonda de temperatura, sendo a luz controlada artificialmente. Cada pavilhão continha duas linhas de comedouros automáticos e três linhas de bebedouros do tipo pendular, que eram abastecidos por 3 silos independentes e 2 depósitos de água comuns, exteriores ao pavilhão. Na entrada dos pavilhões havia uma antecâmara que servia de espaço para arrumações.

⁸Os machos e as fêmeas são criados separadamente, porque têm fisiologias de crescimento diferentes que tornam mais rentável a engorda dos machos até idades mais avançadas do que as das fêmeas.



6.2 - Biossegurança

A unidade de produção encontrava-se a cerca de 1 quilómetro (km) da exploração avícola mais próxima (também de produção de perus) e era parcialmente cercada por uma rede metálica para impedir a entrada de animais e pessoas na área segura.

Em torno dos pavilhões existiam várias estações de isco (Figura 9) com rodenticida no seu interior, que visavam o controlo de roedores.

Em todos os pavilhões, havia um pedilúvio à entrada, (Figura 10) com uma esponja impregnada de desinfectante diluído em água.

A zona de cria era separada da antecâmara por uma porta de madeira e do exterior, por várias janelas, protegidas com uma rede metálica que impedia a entrada de animais do exterior.

A exploração era auto-suficiente em equipamento dedicado ao manejo (ex. redes, carro de mão, etc.) que circulava livremente entre os três pavilhões.

A água utilizada na exploração, provinha de um furo artesiano particular e era controlada regularmente no laboratório da empresa Rações Zêzere, S.A. e o alimento dos animais era armazenado e distribuído sem qualquer contacto com o ambiente exterior.

Havia apenas um tratador a tempo inteiro, que trabalhava exclusivamente naquela unidade de produção e que possuía calçado e vestuário próprios da exploração. Contudo, este era auxiliado, em diversas tarefas, por outros funcionários da empresa. Aos visitantes e aos funcionários que necessitassem entrar na exploração, era facultado um *Kit* de biossegurança, que incluía um fato de macaco (com capuz) e umas botas descartáveis. Todos os funcionários receberam instruções para não contactar com outras explorações de aves ou com outras aves de capoeira.

As entradas de veículos e pessoas eram controladas e restritas ao mínimo indispensável.

Figura 9. Estação de isco



(Fotografia original)

Figura 10. Pedilúvio na entrada dos pavilhões



(Fotografia original)



6.3 – Maneio

6.3.1- Maneio Preparatório

As instalações foram lavadas e desinfectadas, seguidamente foi colocada uma cama de raspa de pinho, com cerca de 8cm de espessura e foram preparados os “círculos maternidade” para a recepção dos perus do dia. Efectuou-se uma desinfecção final, por fumigação com formaldeído e as instalações foram colocadas em vazio sanitário. Apesar do vazio sanitário previsto ser de 10 dias, nos pavilhões Aviguard e Controlo, devido a um atraso na saída para abate dos perus do ciclo de engorda anterior, atrasou-se a lavagem e da desinfecção e, por este motivo, só foi possível realizar 1 dia de vazio sanitário. Consequentemente, não houve um correcto arejamento dos pavilhões, tendo-se verificado, altos teores de formol no ambiente à chegada. Nas 24h anteriores à recepção dos perus do dia, os pavilhões foram progressivamente aquecidos, de modo a serem atingidas as temperaturas desejadas à chegada, respectivamente, 34°C de temperatura ambiente e 36°C debaixo dos focos de calor.

6.3.2- Maneio geral

Após a chegada, os perus foram criados num ambiente com temperatura controlada e foi-lhes imposto um programa de luz decrescente, no qual se proporcionavam 24h de luz nos primeiros dois dias, 23h do 3º ao 7º dia, 22h do 8º ao 14º dia e finalmente 20h de luz do 15º dia até ao final da criação.

Consoante a fase do crescimento disponibilizou-se *ad libitum* nas duas linhas do comedouro automático: alimento composto de “Iniciação” durante a 1ª semana de vida, alimento composto de “Arranque” na 2ª e 3ª semana de criação, alimento composto de “Crescimento” da 4ª à 6ª semana e por fim alimento composto de “Engorda” da 7ª semana até ao final do estudo (Anexo 2). Durante a 1ª semana, o alimento composto foi também distribuído em comedouros de prato e em embalagens para transporte de ovos (de cartão) espalhadas pelo pavimento do pavilhão (Figura 11), que posteriormente foram sendo gradualmente removidas. A água de bebida foi também facultada *ad libitum*, durante a 1ª semana, em bebedouros de 1ª idade, que foram depois recolhidos e substituídos pelos bebedouros para aves adultas. Os animais mortos eram recolhidos duas vezes ao dia e a mortalidade foi registada diariamente.

Figura 11. Descarga dos perus do dia após a chegada às instalações.

(Fotografia original)

6.3.3- Plano profilático e monitorização de *Salmonella spp.*

6.3.3.1- Plano profilático

Os três grupos seguiram o plano profilático da empresa (Tabela 3), que sofreu ligeiras adaptações, visto que, aos grupos Aviguard e Bioplus não foi administrada Tilmicosina do 3º ao 6º dia, com o objectivo de não interferir com o probiótico.

Tabela 3. Plano profilático para perus (da empresa)

Dia	Princípio activo	Produto
1º e 2º	Electrólitos	Electrólitos [®]
3º ao 6º	Tilmicosina	Pulmotil A.C. [®]
18º	Vacinação Rinotraqueíte (TRT)	Aviffa-RTI [®]
19º e 20º	Complexo multi-vitâmico	Axitol C [®]
28º	Vacinação Enterite Hemorrágica	Dindoral [®]
42º	Vacinação rinotraqueíte	Aviffa-RTI [®]
43º a 46º	Tilmicosina	Pulmotil A.C. [®]
47º e 48º	Suplemento mineral (Cálcio e Fósforo)	Glucophoscal [®]
49º	Flubendazol	Flubenol [®]
56º	Hepatoprotector	Hepavet [®]
59º	Vacinação Newcastle	Avinew [®]

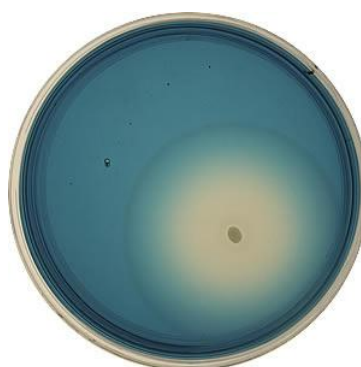


6.3.3.2- Monitorização de *Salmonella* spp.

O Regulamento (CE) n.º 2160/2003 relativo ao controlo de salmonelas e outros agentes zoonóticos específicos de origem alimentar, veio estipular a criação de objectivos comunitários para a redução de *Salmonella*, o que deu uma nova importância ao controlo deste agente patogénico. Por sua vez, o Regulamento (CE) n.º 584/2008 determinou o ano 2010, como a data de início do programa de monitorização de salmonelas em perus. Por este motivo pareceu incluiu-se a monitorização deste agente neste estudo.

Para o efeito foram colhidas na 4ª, na 8ª e na 12ª semana, duas amostras 150 g de fezes, por pavilhão. A colheita das amostras, foi feita percorrendo os pavilhões em ziguezague e colhendo aleatoriamente algumas das fezes encontradas durante o percurso até perfazer 150g. As amostras foram posteriormente enviadas para laboratório da empresa Rações Zêzere, onde foram processadas e analisadas. No laboratório, foi retirada uma sub-amostra de 25g por pavilhão, a qual foi pré-enriquecida em 225 ml de água peptonada (meio não selectivo) e incubada a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante $18\text{ h} \pm 2\text{ h}$. Seguidamente retirou-se 0,1ml da cultura semeada em água peptonada e cultivou-se em meio de enriquecimento selectivo MSRV (bioMérieux SA, Marcy l'Etoile, France) deixando-se a incubar a $41,5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$. No final deste período examinaram-se as placas e no caso de existirem colónias positivas (Figura 12) estas eram semeadas em meio selectivo gelose XLD (bioMérieux SA, Marcy l'Etoile, France) e em meio verde brilhante (bioMérieux SA, Marcy l'Etoile, France) para confirmação (ISO 6579:2002/Amd.1: 2007).

Figura 12. Meio de cultura MSRV com colónia positiva.



As placas positivas apresentam uma zona turva branca acinzentada em torno da gota semeada.

Adaptado de http://www.oxoid.com/image_library/uk/pr0343.jpg

Ao longo do período de estudo, todos os grupos foram negativos a *Salmonella* spp.



6.4- Aves

Foram utilizados 20.100 perus do dia (*Meleagris gallopavo*), da estirpe BUT-10 (Groupe Grelier, St. Laurent de la Plaine, França) de ambos os sexos. Cujos índices produtivos Standard são disponibilizados no Anexo 3

6.5 - Produtos utilizados

Aviguard^{® 9}, constituído por microflora intestinal viva liofilizada de galinhas SPF (*Specific Patogen Free*) adultas, preparada por fermentação. Apresenta-se em embalagens de 2000 doses ou de 7000 doses na forma de pó solúvel, passível de ser administrado na água de bebida ou directamente sobre as aves por aspersão. Neste ensaio foi administrada uma dose por peru, na água de bebida a ser consumida em 8 horas.

Bioplus2B^{®15}, probiótico constituído por esporos de *Bacillus licheniformis* (DMS5749) contendo um mínimo de $1,6 \times 10^9$ unidades formadoras de colónia por grama e *Bacillus subtilis* (DMS5750) também contendo um mínimo de $1,6 \times 10^9$ unidades formadoras de colónia por grama. É apresentado na forma de pó para incorporação nos alimentos compostos como aditivo alimentar. Neste estudo foi administrado em contínuo desde a chegada até ao final, com uma dose de incorporação no alimento composto de 400g por tonelada.

6.6 - Desenho Experimental

O ensaio incidiu exclusivamente sobre as fêmeas e teve uma duração de 12 semanas, idade à qual, estas vão para abate.

Os animais foram divididos em três grupos de estudo: “Bioplus”, “Controlo” e “Aviguard”, aos quais corresponderam aleatoriamente os pavilhões 1, 2 e 3 respectivamente. Estes foram preenchidos segundo os pressupostos comerciais da empresa, tendo o Pavilhão Bioplus alojado 8000 animais, o Pavilhão Controlo 5800 animais e o Pavilhão Aviguard 6300 animais. A densidade animal esteve sempre abaixo do recomendado pelo Farm Welfare Animal Council (FWAC) (1995) ($35,8 \text{ kg/m}^2$) e o espaço de comedouro e bebedouro por animal também se encontrou dentro dos pressupostos comerciais normalmente utilizados,

⁹ Fichas técnicas em anexo (Anexo 4)



respectivamente um mínimo de 7,5 cm de comedouro por peru e 1 bebedouro por 50 a 100 animais (BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement, 2001).

Ao grupo “Aviguard”, administrou-se o probiótico comercial Aviguard[®], no dia da chegada dos animais às instalações e novamente no 49º dia de vida, após um tratamento antibiótico com Tilmicosina (300ml Pulmotil[®] /1000 litros de água, durante 4 dias), que fazia parte do plano profilático utilizado pela empresa (Tabela 3).

O grupo “Bioplus” foi suplementado com Bioplus2B[®], incorporado continuamente no alimento, desde a chegada dos perus até às 12 semanas. O grupo “Controlo” correspondeu ao controlo negativo, tendo seguido o plano profilático normal da empresa.

6.7 - Medições e análises

6.7.1. - Peso vivo médio (PVM)

Para a determinação dos pesos vivos utilizou-se um dinamómetro com capacidade para 30kg e com uma precisão de 0,02 kg.

A 1ª pesagem foi realizada à chegada e, com o intuito de diminuir o erro da balança, foram pesados aleatoriamente 10 animais de cada vez até perfazer um total 50 animais pesados por grupo de estudo. Posteriormente no final de cada semana pesaram-se aleatoriamente e individualmente 50 fêmeas de cada grupo de estudo. Com estes dados, calculou-se o PVM (kg) de cada grupo a cada semana.

6.7.2 - Ganho médio diário (GMD)

Determinou-se o ganho médio diário (grama (g) / dia (d)) de uma determinada semana, calculando a diferença entre o PVM dessa semana e o da semana anterior, dividindo por 7 (correspondente aos sete dias da semana) e seguidamente multiplicando por 1000; segundo a fórmula seguinte:

$$\text{GMD (g/d)} = \frac{\text{PVM}_2 - \text{PVM}_1}{7} \times 1000$$

GMD= ganho médio diário (g/d)

PVM₁ = Peso vivo médio da semana anterior (kg).

PVM₂ = Peso vivo médio da semana actual (kg).



6.7.3- Mortalidade

As mortalidades diárias de cada pavilhão foram anotadas, para calcular a mortalidade semanal (%) de cada grupo através do seguinte cálculo:

$$\text{Mortalidade semanal} = \frac{\text{Nº de animais mortos ou excluídos}}{\text{Nº total de animais}} \times 100$$

As mortalidades semanais foram somadas para obter-se a mortalidade cumulativa (%).

6.7.4- Índice de conversão alimentar

Devido ao facto dos silos de armazenagem do alimento não possuírem medidor de nível e de haver apenas 1 silo por pavilhão, não foi possível registar semanalmente, o alimento consumido pelas fêmeas. Por este motivo, apenas foi calculado, o índice de conversão alimentar conjunto dos machos e das fêmeas, no fim da engorda. Para tal, calculou-se a razão entre, o total de alimento consumido (pelos machos e pelas fêmeas) e o peso vivo do total dos animais transportados para abate, porém, não foi contabilizado o peso dos animais que morreram durante o período de engorda.

6.7.5 - Uniformidade do bando

Num bando, nem todos os animais crescem ao mesmo ritmo, existindo sempre variações de peso vivo entre as aves que o compõem, variação esta, que é normalmente denominada “uniformidade do bando”. A uniformidade de um bando, pode ser um bom indicador do desenvolvimento das aves, visto que, um bando é tanto mais uniforme quanto mais correcto for o seu desenvolvimento. Por isso, nos bandos onde se tenham registado fracos crescimentos ou onde ocorreram problemas sanitários as uniformidades são normalmente menores (o PVM tem maior variação) (BUT, 2005b).

A acção dos probióticos sobre a uniformidade dos bandos, é ainda um tema pouco abordado, visto que, a grande maioria dos autores, apenas foca nos seus estudos os parâmetros produtivos tal como a mortalidade, o ganho médio diário, o peso vivo médio e o índice de conversão alimentar. Porém, as crescentes preocupações relacionadas com as toxinfecções de origem alimentar, têm dado importância a esta temática, visto que dos bandos mais uniformes, resulta normalmente um produto final com uma menor carga bacteriana. Nos matadouros, os



equipamentos de evisceração, nem sempre estão adaptados para as carcaças de menor porte e por isso há uma maior contaminação fecal nos bandos menos uniformes (Russell, 2003). Estes, também apresentam normalmente um estado sanitário pior, o que comporta um maior risco de contaminação das carcaças com bactérias patogénicas. (Singer & Hofacre, 2006).

O parâmetro mais utilizado para averiguar a uniformidade é o coeficiente de variação do PVM do bando, que tem sido empregue por vários autores (Cumpănăsoiu, Tîrziu, Nichita, & Şereş, 2009; Parks, Grimes, & Ferket, 2005; Russell, 2003) e é recomendado pela British United Turkeys (BUT, 2005a).

6.7.6 - Taxa de rejeição

Este dado foi fornecido pelo matadouro onde se realizou o abate e corresponde à percentagem de animais rejeitados pela inspecção sanitária durante o mesmo. A fórmula utilizada para o seu cálculo foi a seguinte:

$$\text{Taxa de Rejeição (\%)} = \frac{\text{Número de animais rejeitados}}{\text{Número total de animais}} \times 100$$

6.8 - Análise estatística

Os pesos vivos e os ganhos médios diários, foram analisados, recorrendo-se ao programa SPSS Statistics versão 17.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois). Primeiro, fez-se a análise de variância, utilizando-se o teste One-way ANOVA e posteriormente, compararam-se as médias de cada grupo pelo teste de Tukey, sendo o nível de significância definido de $P \leq 0,05$. As variáveis mortalidade semanal, mortalidade cumulativa e taxa de rejeição foram analisadas com o auxílio do programa Office Excel 2007 tendo sido submetidas ao teste de χ^2 (qui-quadrado), sendo o nível de significância definido de $P \leq 0,01$.



7 - Resultados

Os perus do dia chegaram à exploração de engorda em boas condições higieno-sanitárias e com uma boa condição física. A mortalidade durante o transporte foi semelhante em todos os grupos (em média 0,29%) tal como o PVM à chegada (em média 0,062 kg).

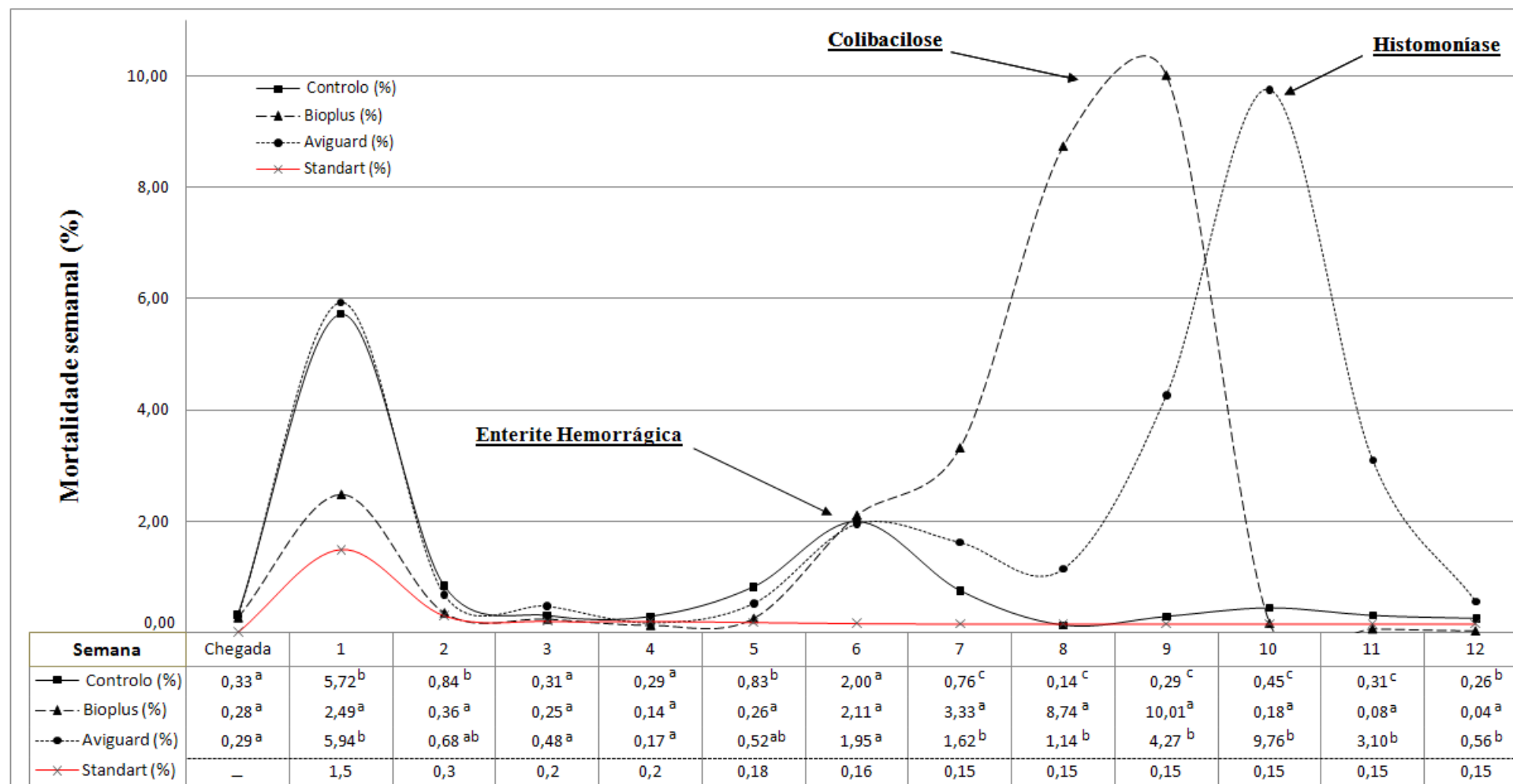
7.1- Mortalidade semanal e cumulativa

Na 1ª semana do ensaio, registou-se em todos os grupos de estudo uma mortalidade consideravelmente superior à estandardizada para perús de engorda (1,5%))¹⁰. Contudo, a do grupo Bioplus (2,49%) foi significativamente inferior à dos grupos Controlo (5,72%) e Aviguard (5,94%) (Figura 13). Porém, nestes dois últimos grupos foram registadas algumas conjuntivites, provavelmente relacionadas com os altos níveis de formol verificados nos seus pavilhões no momento da chegada. Na 2ª semana a mortalidade diminuiu em todos os grupos, tendo-se mantido até à 5ª semana em valores próximos aos Standard (Figura 13). Durante este período, foi semelhante em todos os grupos, excepto na 2ª e na 5ª semana, onde a mortalidade do grupo Bioplus foi significativamente inferior à do grupo Controlo (Figura 13). Na 6ª semana, houve um pico de mortalidade nos três grupos, onde todos apresentaram mortalidades semelhantes (Bioplus 2,11%, Controlo 2,00%, Aviguard 1,95%) (Figura 13). Esta mortalidade, muito superior à Standard, coincidiu com a ocorrência de diarreias em todos os grupos e, à necrópsia, os animais apresentavam o intestino e o ceco muito dilatados com conteúdo líquido e gasoso no seu interior e por vezes sinais de peritonite. Estes sintomas estiveram provavelmente relacionados com uma passagem do vírus da Enterite Hemorrágica (gen. *Siadenovirus*) pela exploração, uma vez que todos os grupos tinham títulos muito elevados de anticorpos específicos contra este vírus na 8ª semana. Ainda durante a 6ª semana, antes do diagnóstico de Enterite hemorrágica, administrou-se em todos os grupos Enrofloxacina por via oral (diluída na água de bebida), com o objectivo de controlar os sintomas observados. Da 7ª à 11ª semana as mortalidades foram diferentes ($P \leq 0,01$) em todos os grupos, uma vez que, no grupo Controlo, a mortalidade diminuiu após a 6ª semana e manteve-se baixa até ao final do estudo, enquanto que, nos grupos Bioplus e Aviguard, se verificaram respectivamente, dois novos picos de mortalidade, porém, em semanas diferentes (Figura 13).

¹⁰Por não existirem dados relativos à mortalidade standard específicos da estirpe BUT-10 os valores utilizados foram baseados as mortalidades standard da estirpe BUT-9 (BUT, 2008a) (as mortalidades esperadas são semelhantes para as duas estirpes).



Figura 13. Mortalidade semanal (%) verificada nos grupos Bioplus (linha tracejada), Controlo (linha continua) e Aviguard (linha pontuada) durante as 12 semanas do estudo e mortalidade semanal (%) standard de perus de engorda (linha vermelha).



^{a-c} Valores da mesma coluna sem sobrescritos comuns diferem significativamente entre si ($P \leq 0,01$).



Na 12^a semana todos os grupos verificaram mortalidades relativamente baixas e apenas a do grupo Bioplus diferiu significativamente da dos outros grupos (Figura 13).

No grupo Bioplus, o pico de mortalidade deu-se após a 6^a semana e prolongou-se até à 9^a (Figura 13). Este foi acompanhado de uma sintomatologia compatível com Colibacilose enterotóxica (*Escherichia coli*): repentinamente, os animais surgiram muito apáticos e prostrados, observando-se um grande número de animais moribundos, que exibiam uma diarreia severa, de cor branca (Figura 14) ou por vezes também esverdeada escura. À necrópsia, eram evidentes sinais de diarreia hipersecretória. O diagnóstico clínico desta doença (não se recorreu a análises laboratoriais), foi feito no decorrer da 8^a semana e, de imediato, administrou-se aos animais Gentamicina, por via intramuscular.

Figura 14. Diarreia esbranquiçada observada nos animais do grupo Bioplus na 8^a semana do estudo.



(Fotografia original)

Na 10^a semana a mortalidade diminuiu drasticamente para valores próximos dos Standard e manteve-se baixa até ao final do estudo (Figura 13).

No grupo Aviguard, a mortalidade diminuiu ligeiramente nas semanas 7 e 8, porém, da 9^a à 11^a semana houve um aumento súbito (Figura 13), que esteve associado a um surto de Histomoníase (*Histomonas meleagridis*). O diagnóstico clínico foi realizado no final da 8^a semana, quando à necrópsia se observaram as lesões patognomónicas da doença (Figuras 15 e 16) e foi mais tarde confirmado laboratorialmente, recorrendo a análises efectuadas no laboratório de parasitologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa (FMV-UTL). Após o diagnóstico, foi administrada Tiamulina por via oral (na água de bebida), visto que se pensa ter alguma actividade contra as *Histomonas meleagridis*

(Burch, Young, & Watson, 2007) Na 12ª semana a mortalidade reduziu-se muito acentuadamente (Figura 13).

Figura 15. Diarreia amarela “enxofre”



Um dos primeiros sinais da Histomoníase é o aparecimento de diarreias amarelas cor de enxofre. (Fotografia original)

Figura 16. Lesões patognomónicas de Histomoníase.



Ceco ulcerado, hemorrágico e com paredes espessadas preenchido com conteúdo caseoso. Fígado com focus necróticos de centro deprimido e bordo saliente. (Fotografia original)

Assim sendo, até à 7ª semana, a mortalidade cumulativa do grupo Bioplus, foi significativamente inferior à dos grupos Controlo e Aviguard, cujas mortalidades foram semelhantes (Tabela 4). Na 8ª semana, esta situação inverteu-se e a mortalidade cumulativa do Controlo (11,2%), passou a ser significativamente inferior à dos outros dois grupos (18,0% e 12,8%), tendo-se mantido inferior até ao final do estudo (Tabela 4). Durante este período a mortalidade cumulativa do Bioplus foi significativamente superior à do Aviguard na 8ª e na 9ª semana, semelhante na 10ª e na 11ª e significativamente inferior na 12ª (Tabela 4).

As mortalidades observadas nos três grupos foram, durante todo o ensaio, superiores às esperadas para perus de engorda (Tabela 4) Consequentemente, no final do estudo, todos os grupos totalizavam uma mortalidade acumulada notavelmente superior à Standard (Tabela 4).



Tabela 4. Mortalidade cumulativa (%) dos grupos Controlo, Bioplus e Aviguard em cada uma das semanas do estudo e mortalidade cumulativa Standard (%) de perus de engorda.

Grupo	Semana											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Controlo	6,1 ^b	6,9 ^b	7,2 ^b	7,5 ^b	8,3 ^b	10,3 ^b	11,1 ^b	11,2 ^b	11,5 ^b	12,0 ^b	12,3 ^b	12,5 ^b
Bioplus	2,8 ^a	3,1 ^a	3,4 ^a	3,5 ^a	3,8 ^a	5,9 ^a	9,2 ^a	18,0 ^a	28,0 ^a	28,1 ^a	28,2 ^a	28,3 ^a
Aviguard	6,2 ^b	6,9 ^b	7,4 ^b	7,6 ^b	8,1 ^b	10,0 ^b	11,7 ^b	12,8 ^c	17,1 ^c	26,8 ^a	29,9 ^a	30,5 ^c
Standard	1,5	1,8	2,0	2,2	2,4	2,5	2,7	2,8	3,0	3,1	3,3	3,4

^{a-c} Valores da mesma coluna sem sobrescritos comuns diferem significativamente entre si ($P \leq 0,01$).

A mortalidade observada no grupo Controlo durante o ensaio, foi muito elevada, comparativamente à média dos últimos 7 ciclos de engorda, que foram realizados no mesmo pavilhão (entre o Outono de 2005 e o Outono de 2008) (Figura 17). Nos pavilhões Bioplus e Aviguard a situação foi idêntica, contudo, a diferença em relação à média foi muito mais acentuada (Figuras 18 e 19). No final deste ensaio, a mortalidade observada no pavilhão Bioplus, foi cerca de 3 vezes superior à média dos últimos 7 ciclos, enquanto que a do Aviguard, foi cerca de 5 vezes superior.

Figura 17. Diferença (%) entre as Mortalidades Standard e as obtidas no Pavilhão Controlo durante o ensaio e nos 7 ciclos de engorda anteriores

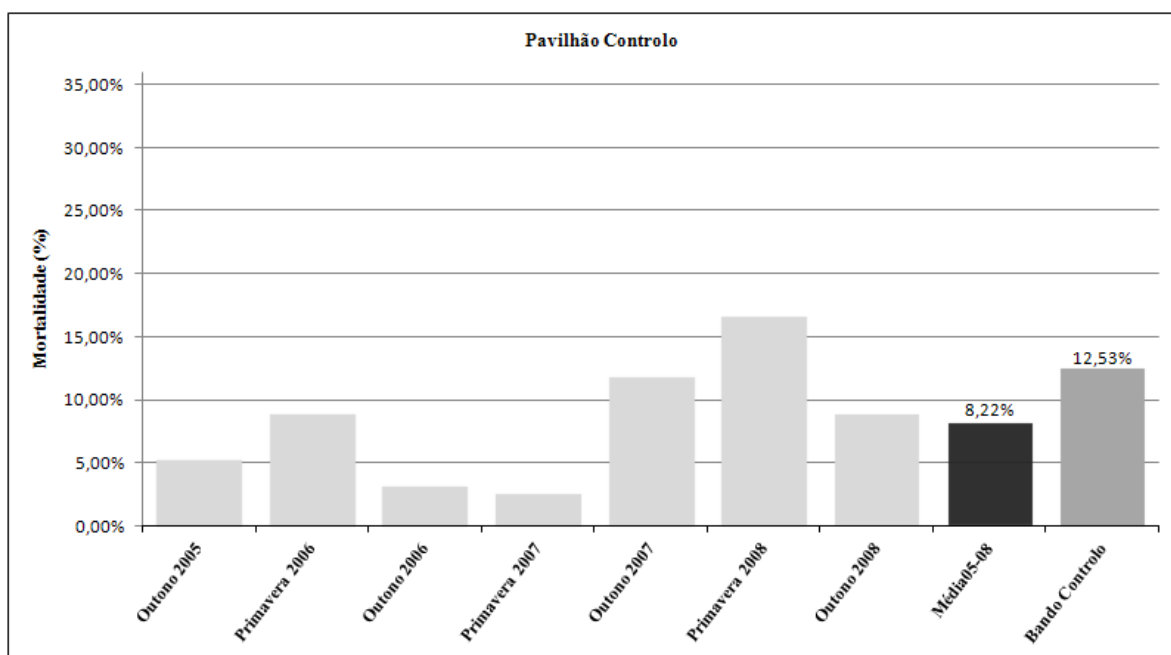




Figura 18. Diferença (%) entre as Mortalidades Standard e as obtidas no Pavilhão Bioplus durante o ensaio e nos 7 ciclos de engorda anteriores

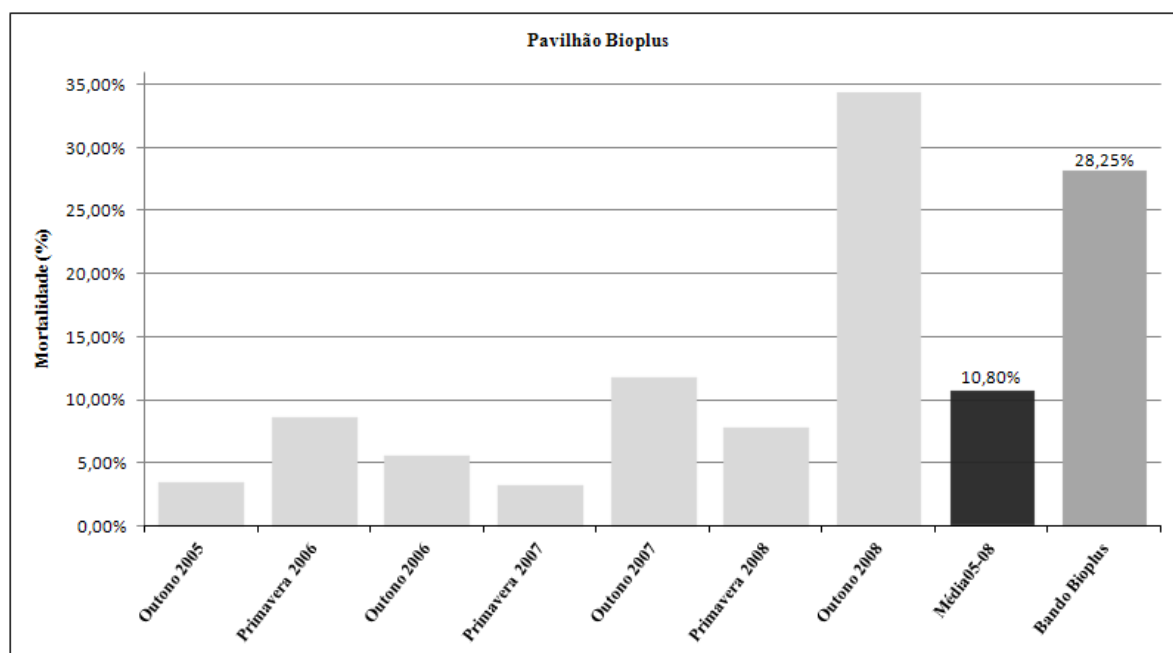
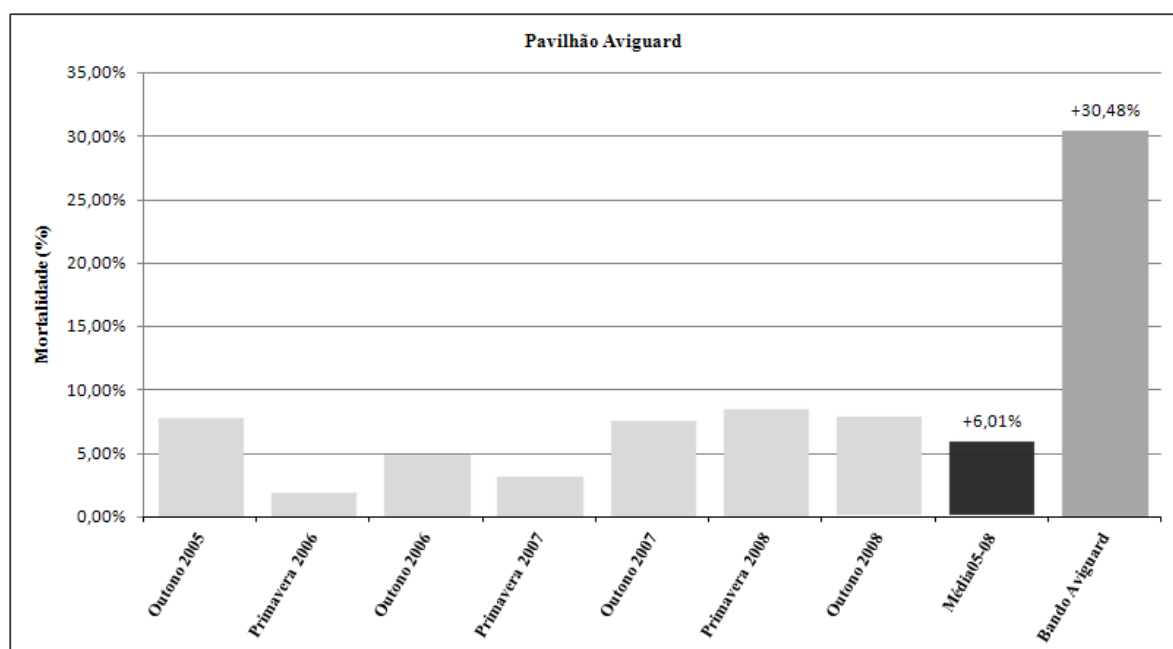


Figura 19. Diferença (%) entre as Mortalidades Standard e as obtidas no Pavilhão Aviguard durante o ensaio e nos 7 ciclos de engorda anteriores





7.2 – Ganho médio diário (GMD) e Peso vivo médio (PVM)

No decorrer do estudo, os crescimentos dos três bandos foram muito inconstantes, sendo ainda de salientar, que a partir da 7ª semana os GMDs aumentaram claramente (Tabela 5).

Tabela 5 GMD (g/d) dos grupos Controlo, Bioplus e Aviguard em cada uma das semanas do estudo.

Semana	Grupo		
	Controlo	Bioplus	Aviguard
1	11,1 ^a	10,4 ^a	10,9 ^a
2	21,0 ^a	21,4 ^a	17,5 ^b
3	37,1 ^a	37,4 ^a	34,5 ^b
4	31,9 ^b	40,3 ^a	40,5 ^a
5	34,8 ^b	60,7 ^a	33,1 ^b
6	59,2 ^a	48,9 ^a	56,6 ^a
7	82,7 ^a	82,2 ^a	101,7 ^b
8	110,1 ^b	3,1 ^a	97,1 ^b
9	169,5 ^c	188,0 ^a	61,7 ^b
10	121,2 ^b	98,5 ^a	124,7 ^b
11	81,9 ^c	136,5 ^a	194,8 ^b
12	137,1 ^b	123,9 ^a	140,5 ^b

^{a-c} Valores da mesma linha sem sobrescritos comuns diferem significativamente entre si ($P \leq 0,05$).

Em comparação com os outros grupos, o crescimento do grupo Bioplus foi mais regular durante as 5 primeiras semanas, tendo o seu GMD, sido significativamente superior ao dos outros grupos na 5ª semana (Tabela 5). Ainda neste período, os GMDs do grupo Aviguard foram significativamente inferiores aos dos restantes grupos durante a 2ª e a 3ª semana (Tabela 5). Na 6ª semana, todos os GMDs foram semelhantes e, na 7ª semana, apenas o do grupo Aviguard foi significativamente superior ao dos outros grupos.

Assim sendo, o PVM do grupo Aviguard foi significativamente inferior ao dos outros grupos, durante a 2ª e a 3ª semana, enquanto que o do grupo Bioplus, foi significativamente superior aos outros na 5ª semana. Na 6ª e na 7ª semana não se registaram diferenças significativas entre os PVMs dos três grupos (Tabela 6).

Da 8ª semana à 11ª (inclusive) os crescimentos foram em geral, muito irregulares, sendo de salientar a paragem de crescimento, associada à Colibacilose, que foi observada no bando Bioplus durante a 8ª semana (3,1g/d) e o forte abrandamento registado no bando Aviguard no decorrer da 9ª semana, possivelmente relacionado com o surto de Histomoníase (Tabela 5). Como resultado, na 8ª semana o grupo Bioplus registava um PVM significativamente inferior



ao dos outros grupos e na 9ª e na 10ª semana, ambos os bandos tratados com probióticos apresentavam PVMs significativamente inferiores aos do Controlo (Tabela 6). Na 11ª semana os PVMs não foram significativamente diferentes entre si (Tabela 6), porém, na 12ª semana, devido ao menor GMD registado no bando Bioplus, durante a 10ª e a 12ª semana (Tabela 5), o seu PVM diferiu significativamente do Aviguard, mas permaneceu sem diferenças significativas em relação ao Controlo (Tabela 6).

Tabela 6. PVM (kg) dos grupos Controlo, Bioplus e Aviguard em cada uma das semanas do estudo.

Semana	Grupo		
	Controlo	Bioplus	Aviguard
1	0,14 ± 0,024 ^a	0,14 ± 0,015 ^a	0,14 ± 0,027 ^a
2	0,28 ± 0,044 ^a	0,29 ± 0,053 ^a	0,26 ± 0,060 ^b
3	0,54 ± 0,079 ^a	0,55 ± 0,068 ^a	0,50 ± 0,070 ^b
4	0,77 ± 0,19 ^a	0,83 ± 0,12 ^a	0,79 ± 0,12 ^a
5	1,01 ± 0,25 ^b	1,26 ± 0,18 ^a	1,02 ± 0,25 ^b
6	1,43 ± 0,46 ^a	1,60 ± 0,37 ^a	1,41 ± 0,42 ^a
7	2,00 ± 0,60 ^a	2,18 ± 0,66 ^a	2,12 ± 0,64 ^a
8	2,78 ± 0,91 ^b	2,20 ± 0,42 ^a	2,80 ± 0,65 ^b
9	3,96 ± 0,76 ^b	3,51 ± 0,50 ^a	3,24 ± 0,77 ^a
10	4,81 ± 0,66 ^b	4,20 ± 0,56 ^a	4,11 ± 0,76 ^a
11	5,38 ± 0,87 ^a	5,16 ± 0,62 ^a	5,47 ± 0,79 ^a
12	6,34 ± 0,78 ^{ab}	6,03 ± 0,57 ^a	6,46 ± 0,82 ^b

^{a-c} Valores da mesma linha sem sobrescritos comuns diferem significativamente entre si ($P \leq 0,05$).

No final do estudo, o PVM do grupo Bioplus foi cerca de 4,9% inferior ao do Controlo e 6,7% inferior ao do Aviguard, enquanto que o do Aviguard, foi cerca de 1,7% superior ao do Controlo

Os PVMs foram apenas comparados com o standard às 12 semanas, porque até à 6ª semana a empresa forneceu aos animais uma dieta restritiva em energia (não recomendada pela BUT), com o intuito de evitar problemas de morte súbita (por falência cardíaca), relacionados com o desproporcional crescimento muscular relativamente ao crescimento cardíaco. Às 12 semanas, tanto o grupo Controlo (6,34 ± 0,78 kg) como o Aviguard (6,46 ± 0,82 kg) exibiam PVMs relativamente próximos aos esperados para estirpe (6,45 kg)¹¹, ao passo que o Bioplus (6,03 ± 0,57 kg) foi claramente inferior ao esperado.

¹¹ Os pesos standard para a estirpe BUT-10 são os definidos pela British United Turkeys (BUT, 2008b)



Comparativamente com os 7 ciclos de engorda anteriores, o grupo Controlo exibiu um valor de PVM similar à média (Figura 20). Ambos os grupos tratados com probiótico, exibiram PVMs inferiores à média, embora, esta diferença, tenha sido mais marcada no grupo Bioplus. (Figuras 21 e 22).

Figura 20. Diferença (%) entre os PVMs Standard e os obtidos no Pavilhão Controlo durante o ensaio e nos 7 ciclos de engorda anteriores.

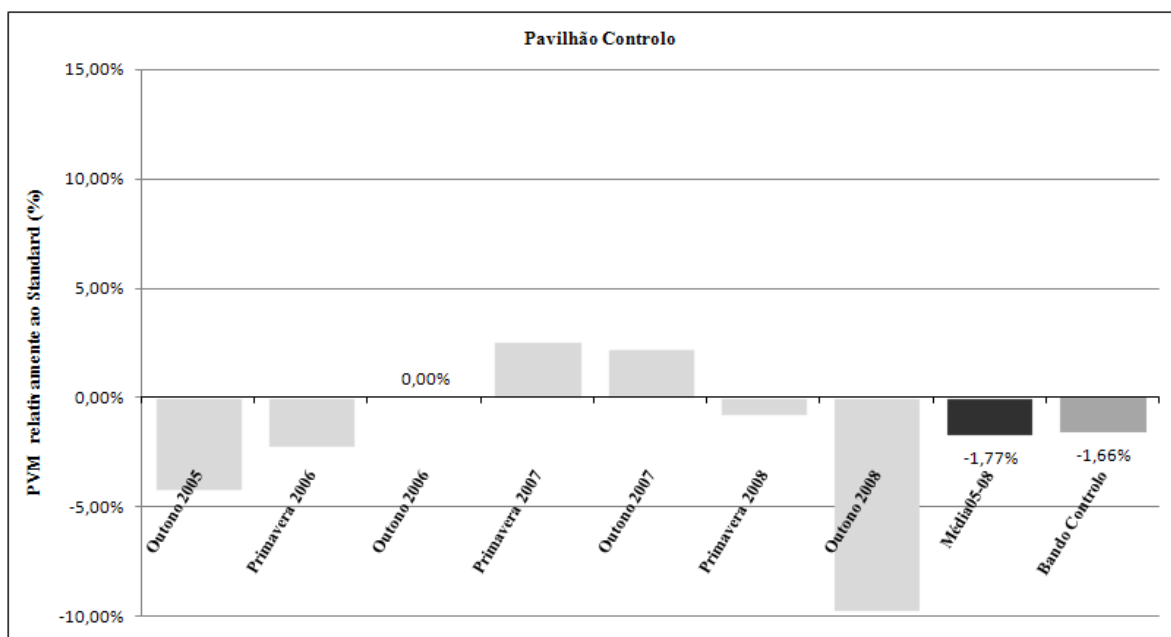


Figura 21. Diferença (%) entre os PVMs Standard e os obtidos no Pavilhão Bioplus durante o ensaio e nos 7 ciclos de engorda anteriores

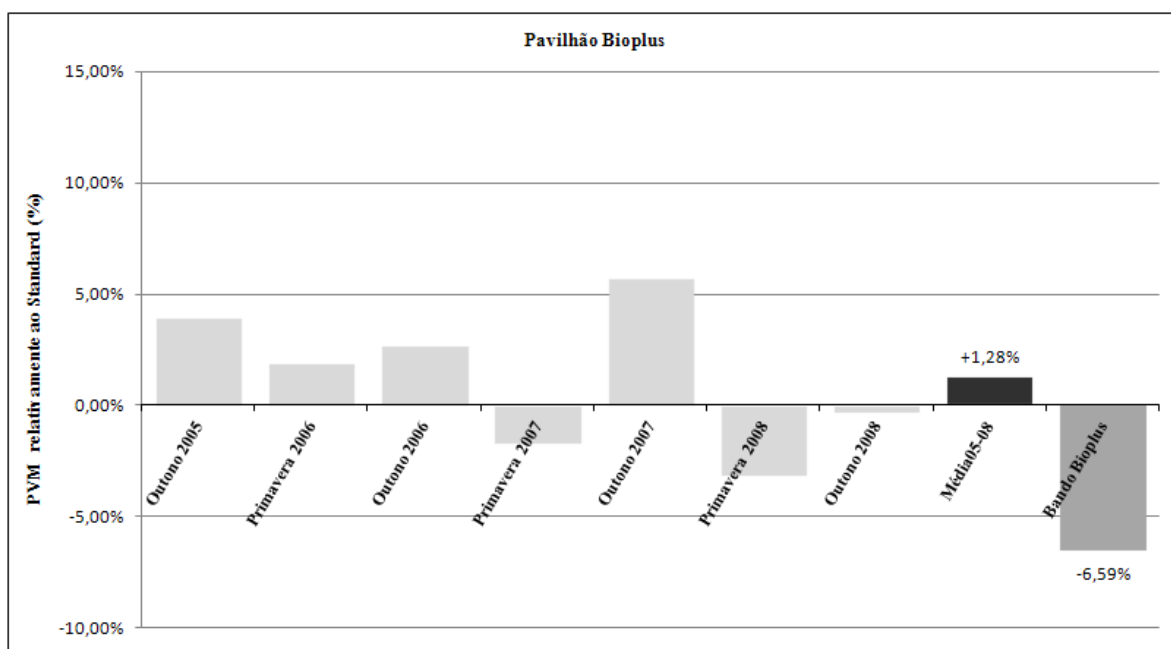
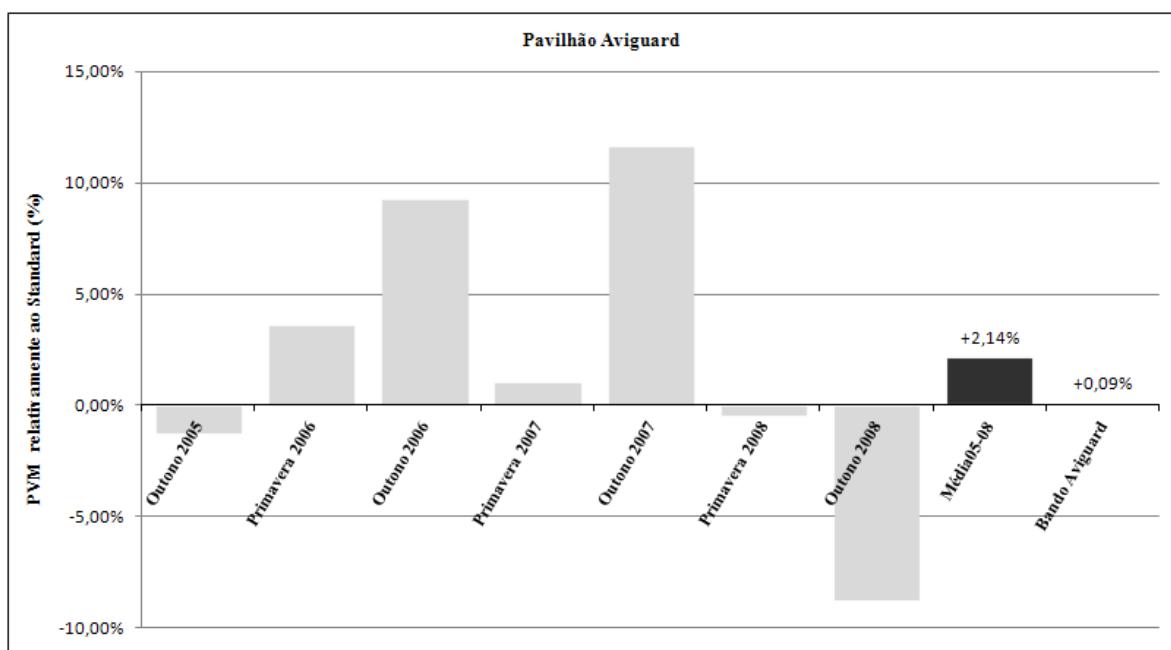




Figura 22. Diferença (%) entre os PVMs Standard e os obtidos no Pavilhão Aviguard durante o ensaio e nos 7 ciclos de engorda anteriores.



7.3 - Índice de conversão alimentar (ICA)

Como é observável na Tabela 7, no final do estudo, o índice de conversão alimentar do grupo Bioplus foi bastante superior ao do grupo Controlo e ao do Aviguard, enquanto que o destes grupos foi similar entre si. É ainda de referir que este parâmetro foi calculado conjuntamente com os machos que saíram para abate em idades diferentes. Os machos do pavilhão Controlo saíram para abate às 20 semanas, enquanto que, os dos pavilhões Bioplus e Aviguard saíram para abate respectivamente às 19 e 21 semanas.

Tabela 7. Índice de conversão alimentar conjunto dos machos e das fêmeas no fim do ciclo de criação, em cada grupo de estudo.

Variável	Grupo		
	Controlo	Bioplus	Aviguard
ICA	2,825	2,940	2,857

Comparativamente com os índices de conversão dos últimos ciclos de engorda, o dos grupos Controlo e Bioplus foi muito próximo da média (Figuras 23 e 24), ao passo que, o do grupo Aviguard foi um pouco superior ao normal (Figura 25). Todos os grupos exibiram índices de conversão muito superiores aos Standard (Figuras 23, 24 e 25).



Figura 23. Diferença (%) entre os índices de conversão Standard e os obtidos no Pavilhão Controlo durante o ensaio e nos 7 ciclos de engorda anteriores

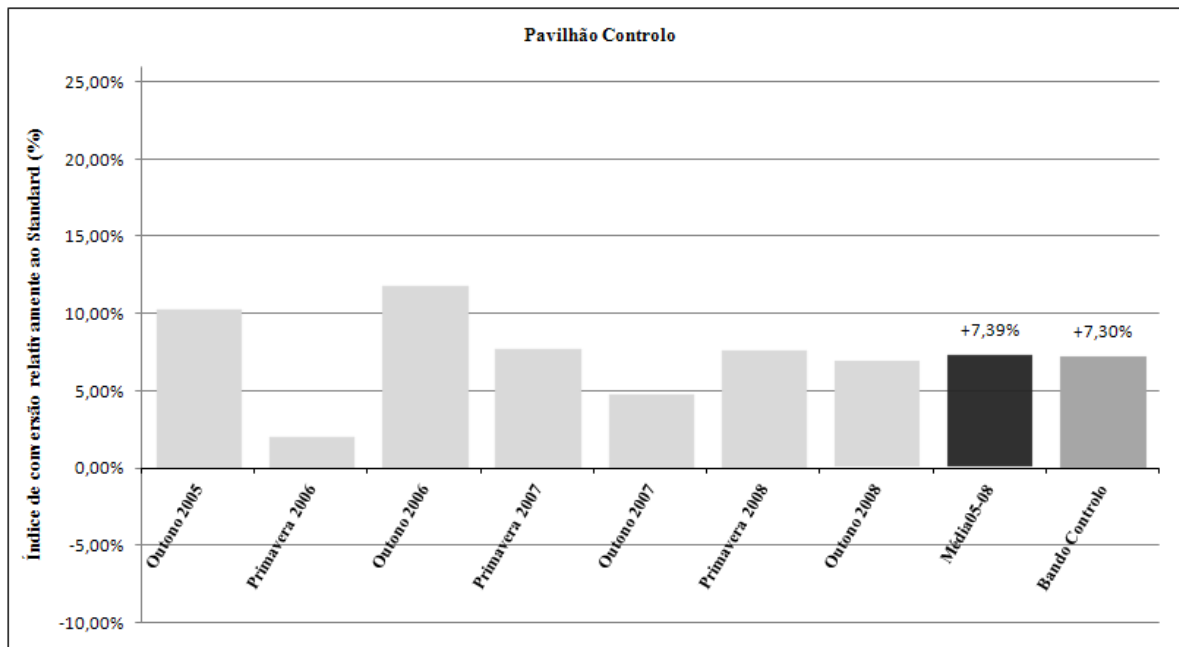


Figura 24. Diferença (%) entre os índices de conversão Standard e os obtidos no Pavilhão Bioplus durante o ensaio e nos 7 ciclos de engorda anteriores

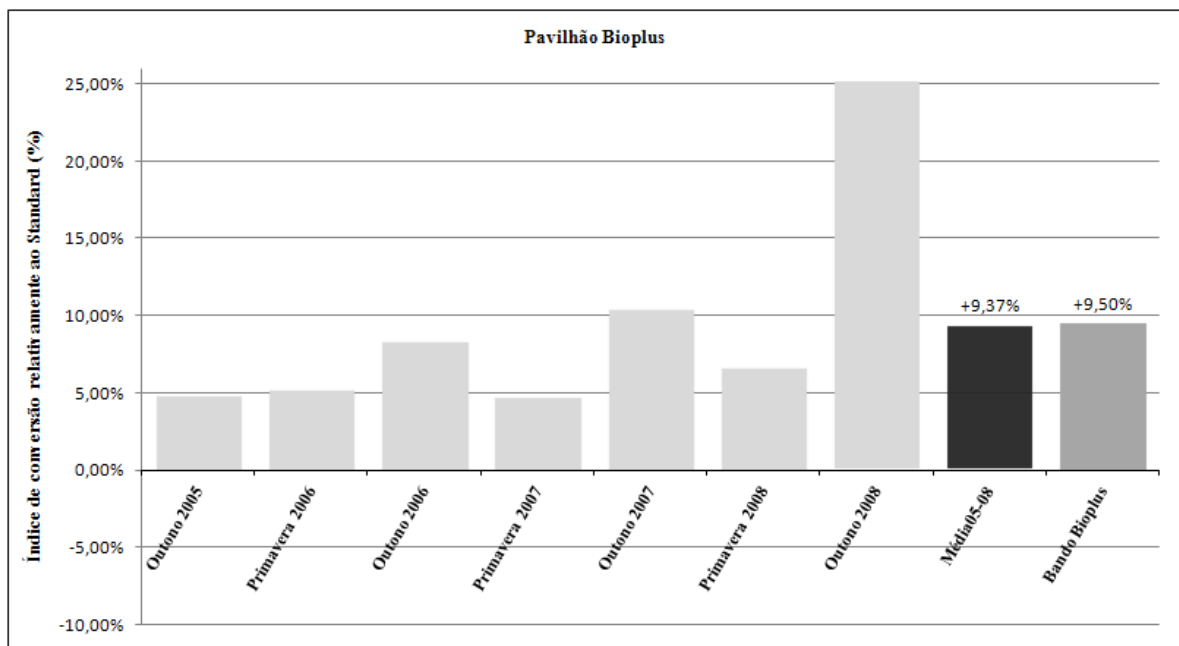
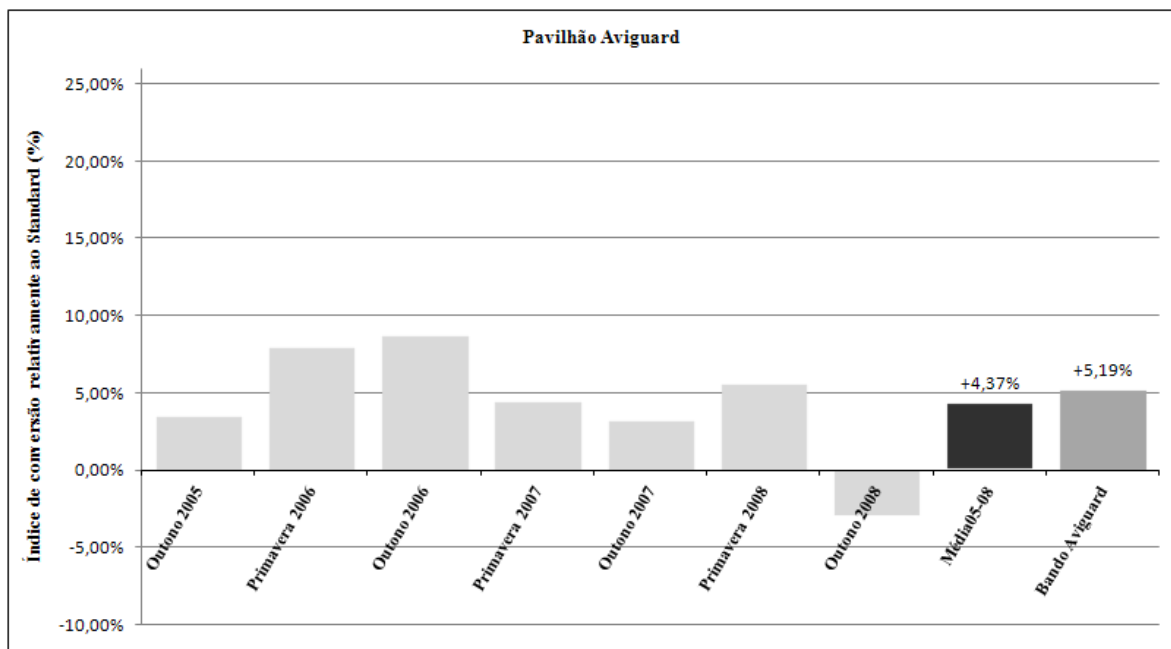




Figura 25. Diferença (%) entre os índices de conversão Standard e os obtidos no Pavilhão Aviguard durante o ensaio e nos 7 ciclos de engorda anteriores



7.4- Uniformidade do bando

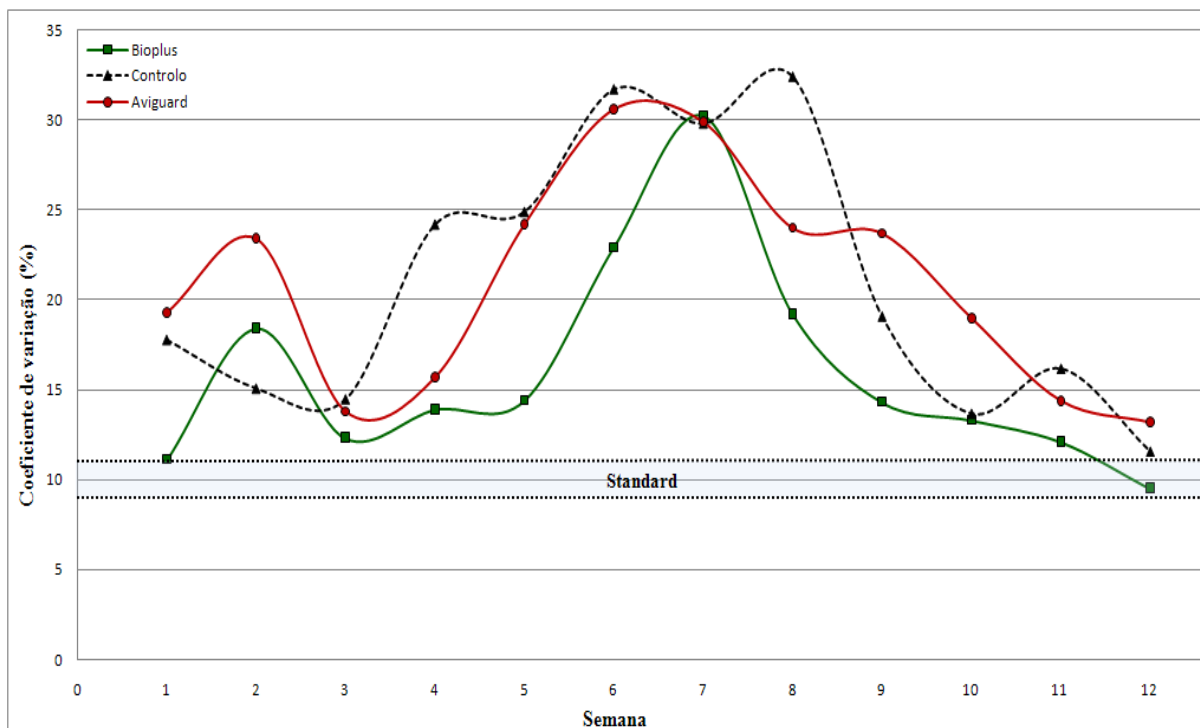
No decorrer deste ensaio, os coeficientes de variação do PVM foram muito variáveis e em regra bastante superiores aos esperados em perus numa situação de engorda (entre 9% e 11%) (Figura 26). Estes coeficientes de variação elevados, são indicativos da fraca uniformidade, que foi evidente nos três bandos durante todo o período do estudo.

Ainda assim, o coeficiente de variação do PVM do bando Bioplus foi sistematicamente inferior ao dos outros grupos, excepto na 2ª e na 7ª semana e por este motivo, conclui-se que este grupo apresentou uma maior uniformidade que os restantes, embora as excepções observadas evidenciem uma certa inconstância (Figura 26).

O coeficiente de variação do PVM do bando Aviguard foi alternadamente inferior ou superior ao do Controlo (Figura 26), não sendo por isso assinaláveis diferenças de uniformidade entre os dois grupos.



Figura 26. Coeficientes de variação do PVM (%) observados nos grupos Bioplus, Controlo e Aviguard em cada uma das semanas do estudo.



7.5. - Taxa de rejeição

As taxas de rejeição dos três grupos foram bastante baixas e não evidenciaram diferenças significativas entre si (Tabela 8).

Tabela 8. Taxa de rejeição (%) no matadouro observada em cada grupo.

Variável	Grupo		
	Controlo	Bioplus	Aviguard
Taxa de rejeição (%)	0,67 ^a	0,54 ^a	0,87 ^a

^{a-c} Valores da mesma linha sem sobrescritos comuns diferem significativamente entre si ($P \leq 0,05$).



8 - Discussão

Ao analisar os resultados obtidos, damos conta que durante as primeiras 7 semanas do ensaio, a mortalidade cumulativa do grupo Bioplus, foi significativamente inferior à dos restantes grupos. Esta diferença, foi consequência da maior mortalidade, registada nos grupos Controlo e Aviguard durante a primeira semana, que poderá por sua vez, estar relacionada, com os elevados níveis de formaldeído, observados nesses pavilhões no momento da chegada dos perus do dia. As altas concentrações de formaldeído provocaram uma ligeira conjuntivite aos perus do dia, que ao repousarem com a cabeça sobre a cama ficavam com serradura depositada nos olhos, o que complicava severamente as conjuntivites.

Da 8ª semana até ao final do estudo, ambos os grupos tratados com probiótico exibiram uma mortalidade cumulativa significativamente superior à do Controlo. Este facto, deveu-se principalmente, às altas mortalidades observadas a partir da 7ª semana nos grupos Bioplus e Aviguard, que estiveram muito provavelmente associadas, respectivamente, a um surto de Colibacilose e a um surto de Histomoníase. Durante este período, a mortalidade cumulativa do grupo Bioplus, foi significativamente superior à do Controlo durante a 8ª e a 9ª semana, devido ao aumento de mortalidade verificado neste grupo da 7ª à 9ª semana (Colibacilose), porém, após o surto de Histomoníase (da 9ª à 11ª semana), a mortalidade do grupo Aviguard passou a ser significativamente superior à do Bioplus.

Neste ensaio, não foi possível observar efeitos benéficos dos probióticos sobre a sobrevivência dos animais, visto que no final do estudo, as mortalidades dos grupos tratados com probiótico, foram significativamente superiores à do grupo Controlo. Vários estudos conduzidos em frangos, têm sugerido que a suplementação com Bioplus2B® ou a utilização de *Bacillus subtilis* isoladamente, não produzem qualquer efeito sobre a mortalidade dos bandos (Abdollahi, *et al.*, 2003; Fritts, *et al.*, 2000; Hooge, *et al.*, 2004; Santos, 2002). Estudos com Aviguard®, apenas têm relatado uma melhoria da sobrevivência, quando os animais são infectados com bactérias patogénicas do tracto gastrointestinal (Hofacre, *et al.*, 1998; Hofacre, *et al.*, 2000; Nakamura, *et al.*, 2002).

Não obstante, há que ter em conta que todos os grupos exibiram uma mortalidade bastante superior à média dos últimos ciclos de engorda e que esta foi invulgarmente elevada, no caso dos grupos Bioplus e Aviguard. Esta situação, deveu-se em grande parte, às doenças atrás enumeradas, que poderão por sua vez, estar relacionadas ou ter sido agravadas por algumas



falhas detectadas na lavagem e na desinfecção dos pavilhões, no maneo e também na biossegurança da exploração. Na fase de preparação dos pavilhões para lavagem, verificou-se que alguns equipamentos não foram devidamente desmontados e durante o processo de lavagem e desinfecção foi evidente alguma falta de rigor e método. Agravando a situação, houve um atraso na saída do bando anterior ao do ensaio, que reduziu para 15 dias o tempo disponível para a lavagem, desinfecção e vazio sanitário dos pavilhões e, por esse motivo, o vazio sanitário teve apenas a duração de 1 dia, quando o recomendado é 10 dias (Direcção geral de Veterinária [DGV], 2005). No seguimento das acções de autocontrolo da limpeza e da desinfecção¹², foi detectada sujidade e contaminação fecal nas superfícies e nos equipamentos dos pavilhões. Porém, devido ao tempo limitado de que se disponha, não foi possível corrigir estas falhas. Adicionalmente, no ciclo de engorda anterior ao ensaio, houve uma elevada taxa de mortalidade no pavilhão Bioplus que, segundo o Dr. Tiago Grosso, poderá ter estado relacionada com PEMS (Poult Enteritis and Mortality Syndrome), um síndrome multifactorial, onde se pensa que estejam envolvidos vários vírus imunossupressivos.

Ao nível do maneo, apenas foi detectada alguma dificuldade em controlar a temperatura ambiente e em manter a qualidade do ar, o que pode estar relacionado com o tipo de equipamentos utilizados para o efeito (equipamentos antigos).

No capítulo da biossegurança, alguns problemas relacionados com a construção dos pavilhões, com o controlo de entradas e com a educação dos funcionários também pode ter facilitado a entrada das doenças. Por serem pavilhões antigos, as suas paredes tinham várias fissuras e orifícios, onde se alojavam um grande número de tenebriões (escaravelhos do esterco), que são vectores de variadas doenças. Faltava também, uma zona de arrumação fechada, capaz de barrar o acesso dos roedores aos equipamentos armazenados, de modo a impedir a criação de abrigos, que favoreceram a sua proliferação. O controlo de entradas de pessoal foi ineficiente, sendo frequente a entrada de vários funcionários na exploração, ao contrário do que estava definido. Alguns funcionários, demonstravam ainda uma clara falta de sensibilidade face a determinadas práticas, tais como a manutenção dos pedilúvios em perfeito estado de higiene e a utilização dos kits de biossegurança para entrarem na exploração. Todos

¹² Após a lavagem e a desinfecção dos pavilhões, o veterinário responsável, procedia à inspecção visual dos mesmos e também à recolha de 5 zaragatoas de superfícies e equipamentos, para posterior pesquisa de coliformes no laboratório da empresa rações Zêzere.



estes factores, poderão também ajudar a explicar, a razão pela qual, as mortalidades observadas nos três grupos, foram em geral superiores ao Standard.

Tendo em conta que as mortalidades registadas nos bandos Bioplus e Aviguard, foram, neste ensaio, invulgarmente altas e que o bando Bioplus exibiu numa primeira fase (até às 7 semanas), uma mortalidade cumulativa significativamente inferior à do Controlo, não se pode excluir por completo, a hipótese dos probióticos poderem ter um efeito benéfico sobre a mortalidade dos bandos. Esta hipótese, é suportada por vários estudos, realizados em broilers (Karimi & Rahimi, 2003) e em galinhas poedeiras (L. Li, *et al.*, 2006), onde a utilização do probiótico Bioplus2B[®], revelou diminuir significativamente a mortalidade das aves suplementadas.

Relativamente ao crescimento dos animais, os GMDs foram irregulares durante todo o estudo, provavelmente devido aos mesmos factores que influenciaram a mortalidade. Ao analisar os GMDs, reparamos que na 8^a semana houve uma brusca paragem de crescimento no grupo Bioplus (GMD=3,1g/d), presumivelmente relacionada com a Colibacilose e um notável abrandamento do crescimento no grupo Aviguard durante a 9^a semana, que poderá ter sido uma das consequências do surto de Histomoníase que ocorreu durante esse período.

No final do estudo, os PVMs dos grupos tratados com probiótico, não diferiam significativamente do PVM do grupo Controlo. Estes resultados são congruentes com os obtidos em outros estudos, onde a utilização dos probióticos Bioplus2B[®] (Mutus, *et al.*, 2006) e Aviguard[®] (Al-Zenki, *et al.*, 2009; Pedroso, *et al.*, 2003), não demonstrou ter qualquer efeito sobre o peso vivo dos animais. Outros estudos têm ainda salientado, que a utilização de *Bacillus subtilis* isoladamente, parece não ter efeito sobre o peso vivo das aves (Cardozo, 2006; Chen, *et al.*, 2009; Maiorka, *et al.*, 2001; Pedroso, *et al.*, 2003). Por outro lado, também existem estudos relatado uma melhoria destes índices ao se utilizar Bioplus2B[®] (Abdollahi, *et al.*, 2003; Šabatková, *et al.*, 2008; Teo & Tan, 2006) e também *Bacillus subtilis* isoladamente (Fritts, *et al.*, 2000; Hooge, *et al.*, 2004). Contrariamente, não foram encontrados estudos em que a utilização de Aviguard[®] tenha melhorado o peso vivo dos animais.

Embora não tenha diferido estatisticamente do grupo Controlo, o PVM do grupo Bioplus foi significativamente inferior ao do grupo Aviguard. Este resultado, pode ser o reflexo, das doenças que ocorreram no bando e da deterioração da cama devida à diarreia, mas também dos problemas de biossegurança que foram atrás referidos. Se observarmos o historial do



pavilhão Bioplus, confirmamos que o valor do PVM obtido durante este ensaio, foi invulgarmente inferior à média (cerca de 8%).

Ao analisar os PVMs obtidos, há ainda que ter em conta o factor “pavilhão”. Os dados dos últimos anos, indicam que há diferenças entre os PVMs obtidos em cada pavilhão que podem estar relacionadas com a sua orientação, construção ou com factores ambientais não controláveis (ex. exposição solar, direcção do vento, etc.).

Os índices de conversão dos grupos tratados com probiótico não foram inferiores ao do grupo Controlo e por isso o efeito dos probióticos não foi conclusivo. Na bibliografia, têm sido referidas melhorias deste índice, ao utilizar-se Bioplus2B[®] e também *Bacillus subtilis* isoladamente (Cardozo, 2006; Rahimi & Khaksefidi, 2006), contudo, também há várias referências à ausência de resultados (Maiorka, *et al.*, 2001; Mutus, *et al.*, 2006; Pedroso, *et al.*, 2003). Esta incoerência de resultados, não nos permite confirmar se a utilização deste probiótico trás vantagens ou não. Em relação ao Aviguard a bibliografia é escassa, não indicando qualquer melhoria dos índices de conversão (Al-Zenki, *et al.*, 2009; Pedroso, *et al.*, 2003).

Porém, os resultados obtidos têm um valor científico limitado, uma vez que, o índice de conversão alimentar foi calculado em conjunto com os machos. Outro factor que limitou a fiabilidade deste parâmetro, foi o facto de, os animais dos diferentes pavilhões terem saído para abate com idades diferentes. As diferenças entre o índice de conversão alimentar médio, das últimas 7 engordas de cada pavilhão, também podem dificultar a comparação dos resultados. O grupo Aviguard e o grupo Controlo exibiram índices de conversão semelhantes, porém, o do grupo Controlo foi muito próximo da média registada nos últimos 7 ciclos de engorda, ao passo que o do Aviguard foi relativamente superior. Do mesmo modo, o índice de conversão alimentar do grupo Bioplus observado neste ensaio, foi claramente superior ao dos restantes grupos, mas similar à média do pavilhão.

Os coeficientes de variação do PMV dos três grupos, foram em regra bastante superiores aos esperados, o que é indicativo de uma fraca uniformidade dos bandos. Apesar de não ter sido analisado estatisticamente, o coeficiente de variação do PVM foi em regra inferior ao dos outros grupos, o que pode supor uma maior uniformidade. Como foi atrás referido, a uniformidade do bando é um parâmetro pouco estudado, não obstante, existem estudos que relatam um efeito benéfico sobre este parâmetro, ao serem utilizados probióticos (Cumpănășoiu, *et al.*, 2009; Duca, 2006). A acentuada falta de uniformidade observada nos



três grupos de estudo durante o ensaio poderá também ser uma consequência dos factores atrás salientados (doenças, problemas de manejo e falhas de biossegurança).

No que se refere às taxas de rejeição, não houve diferenças significativas entre os grupos tratados e o grupo Controlo. Este resultado está em concordância com os obtidos em outros estudos, onde a utilização de probióticos também não teve influência sobre o índice de rejeição dos perus abatidos (Torres-Rodriguez, 2006; Torres-Rodriguez, Donoghue, *et al.*, 2007).

A inconclusividade dos resultados, evidente neste estudo, poderá presumivelmente estar relacionada, com falhas de manejo, de biossegurança e também com as doenças observadas. Com o intuito de diminuir alguns destes problemas, a empresa adoptou as fichas de controlo da biossegurança e da lavagem e desinfecção dos pavilhões atrás referidas e também foi realizado um seminário para a formação dos trabalhadores (onde foram realizadas as apresentações atrás referidas)

Todavia, alguns aspectos poderiam ainda ser melhorados. Poder-se-ia por exemplo, reparar de um modo cuidado, as frestas e fissuras existentes nas paredes dos pavilhões e criar um espaço individualizado, para arrumações, de modo a evitar a proliferação de pragas. Para prevenir novas ocorrências das doenças que se verificaram durante o estudo, tentou reforçar-se a biossegurança (fichas de controlo e educação dos tratadores), contudo, poderiam ser vantajosas, algumas alterações no plano profilático da empresa. Os títulos de anticorpos maternos, específicos de Enterite Hemorrágica, existentes aos 28 dias¹³, eram muito baixos e por este motivo, seria benéfico antecipar a vacinação. Mas antes, dever-se-ia proceder à determinação (serológica) da idade ideal para vacinação, uma vez que se trata de uma vacina, viva que tem romper a imunidade materna. No caso da Histomoníase, seria aconselhável uma desparasitação mais precoce, preferencialmente antes das 3 semanas, uma vez que, o principal vector desta doença é o parasita *Heterakis gallinarum* e o período de maior susceptibilidade à infecção é entre as 3 e as 12 semanas (McDougald, 2003).

A inconclusividade dos resultados observada, pode ainda estar relacionada, com factores inerentes aos pavilhões, uma vez que, nos 3 pavilhões têm-se obtido resultados diferentes (histórico), ao tipo de estudo realizado, à maneira como foi conduzido, ou às características dos produtos utilizados.

¹³ Idade na qual se vacinavam os perus.



Os ensaios de campo pressupõem a existência de múltiplos factores imponderáveis ou incontroláveis (ex. doenças, condições climáticas) e por isso é previsível a existência de uma variação intrínseca, não relacionada com os objectos em estudo. Para reduzir esta variação é aconselhável realizar vários ensaios, em condições semelhantes.

A utilização dos probióticos, também pode ser facilmente afectada por um grande número de factores, como por exemplo:

- O momento da administração. De acordo com um estudo realizado por Wolfenden *et al* (2007), quando um probiótico é administrado antes de os pintos do dia serem transferidos para as novas instalações (8h antes), a sua eficácia aumenta significativamente, o que pode ser explicado, pelo facto de ainda não terem contactado com a flora microbiana da exploração e, por isso, o seu tracto intestinal vai primariamente ser colonizado pelas bactérias probióticas. No presente estudo, a administração de Aviguard® foi realizada no momento da chegada. Porém como os perus vieram da Bretanha tiveram de viajar durante 48h antes de chegarem à exploração. Provavelmente, teriam sido obtidos melhores resultados com uma administração mais precoce.
- A dose de administração, (Bielke, *et al.*, 2003)
- O modo de administração. Um estudo recente, desenvolvido por Wolfenden *et al* (2007), concluiu que a aplicação destes produtos por aspersão tinha uma eficácia semelhante à administração na água de bebida, com a vantagem de não ser necessário controlar a qualidade da água ou a diluição do produto. No caso do recente ensaio, a qualidade da água foi controlada para administração do Aviguard®. Todavia, foram encontrados alguns problemas em fazer chegar a água com probiótico aos bebedouros, visto que da diluição resultou um pequeno volume de líquido final, para o qual a canalização não estava preparada. A administração por aspersão seria uma boa alternativa neste caso.
- Utilização de antibióticos, durante o ensaio houve a necessidade de utilizar vários antibióticos, tais como: a Tilmicosina, que fazia parte do plano profilático; a



Enrofloxacin, que foi utilizada em todos os bandos durante a 6ª semana (antes do diagnóstico da Enterite Hemorrágica); a Gentamicina, que foi usada no bando Bioplus para controlar a Colibacilose e a Tiamulina, utilizada para atenuar a Histomoníase.

A Tilmicosina, tem um espectro antimicrobiano essencialmente Gram positivo, enquanto que, os restantes antibióticos que foram utilizados, são todos de largo espectro. Tendo em conta que o *Bacillus licheniformis* e o *Bacillus subtilis* são bactérias Gram positivas, tal como a maioria das bactérias que compõem o probiótico Aviguard®, é muito provável que a utilização destes antibióticos, tenha afectado a sobrevivência das bactérias probióticas e, por isso, influenciado negativamente, ou mesmo anulado, o efeito dos probióticos. Posto isto, a administração do probiótico, em contínuo, pode representar uma vantagem. Uma vez os tratamentos antibióticos tiveram um amplo espectro Gram positivo, poderá ainda, ter ocorrido uma ampla destruição da microflora bacteriana. Esta destruição, pode causar desequilíbrios na microflora intestinal, que facilitam a infecção por agentes patogénicos do foro intestinal e a diminuição dos índices produtivos. Por este motivo, teria sido benéfica. a administração de Aviguard® após cada tratamento antibiótico, com o objectivo de se re-colonizar o intestino das aves com uma microflora normal.



9 - Conclusão

Os benefícios da utilização dos probióticos Aviguard® e Bioplus2B® sobre desempenho produtivo de perus de engorda não foram comprovados. Contudo e apesar dos coeficientes de variação do PVM não terem sido analisados estatisticamente, a utilização de Bioplus2B® poderá ter contribuído para a maior uniformidade do bando Bioplus em relação aos outros bandos. Foi ainda evidente, a existência de vários factores relacionados com: o manejo, a biossegurança, as instalações, o tipo de estudo, o tipo de produto utilizado ou simplesmente imponderáveis (ex. doenças), capazes de influenciar marcadamente os resultados obtidos nos estudos de campo e o desempenho dos probióticos. Outra conclusão a tirar é o facto de no contexto avícola actual, onde o uso de antibióticos ainda é rotineiro, a utilização dos probióticos ficar bastante limitada. Para uma melhor avaliação destes produtos recomenda-se uma repetição futura de ensaios deste tipo.



10 - Bibliografia

- Abdollahi, M. R., Kamyab, A., Bazzazzadekan, A., Nik-Khah, A., & Shahneh, A. Z. (2003,). *Effect of different levels of bacterial probiotic on broilers performance*. Paper presented at the British Society of Animal Science Annual Conference 2003, York, U.K., pp. 185
- Ahmad, I. (2006). Effect of probiotics on broilers performance. *International Journal of Poultry Science*, 5(6), 593-597.
- Al-Zenki, S. F., Al-Nasser, A. Y., Al-Saffar, A. E., Abdullah, F. K., Al-Bahouh, M. E., Al-Haddad, A. S., *et al.* (2009). Effects of using a chicken-origin competitive exclusion culture and probiotic cultures on reducing *Salmonella* in broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, 18(1), 23-29.
- Alexopoulos, C., Georgoulakis, I. E., Tzivara, A., Kyriakis, C. S., Govaris, A., & Kyriakis, S. C. (2004). Field evaluation of the effect of a probiotic-containing *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* spores on the health status, performance, and carcass quality of grower and finisher pigs. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 51(6), 306-312.
- Amit-Romach, E., Sklan, D., & Uni, Z. (2004). Microflora ecology of the chicken intestine using 16S ribosomal DNA primers. *Poultry Science*, 83(7), 1093-1098.
- Andreatti Filho, R. L., Okamoto, A. S., Lima, E. T., Gratão, P. R., & DelBem, S. R. (2006). Efeito da microbiota cecal e do *Lactobacillus salivarius* inoculados in ovo em aves desafiadas com *Salmonella enterica* sorovar enteritidis. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 58, 467-471.
- Apajalahti, J. H. A. (2005). Comparative gut microflora, metabolic challenges, and potential opportunities. *Journal of Applied Poultry Research*, 14(2), 444-453.
- Apajalahti, J. H. A., Kettunen, A., Bedford, M. R., & Holben, W. E. (2001). Percent G+C profiling accurately reveals diet-related differences in the gastrointestinal microbial community of broiler chickens. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(12), 5656-5667.
- Apata, D. F. (2009). Antibiotic resistance in poultry. *International Journal of Poultry Science*, 8(4), 404-408.
- Association of Poultry Processors and Poultry Trade in the UE countries. (2009). *Annual Report 2008*. Brussels, Belgium: AVEC, pp. 24-29
- Awad, W., Ghareeb, K., & Böhm, J. (2008). Intestinal structure and function of broiler chickens on diets supplemented with a synbiotic containing *enterococcus faecium* and oligosaccharides. *International Journal of Molecular Sciences*, 9, 2205-2216.
- Barbosa, T. M., & Levy, S. B. (2000). The impact of antibiotic use on resistance development and persistence. *Drug Resistance Updates*, 3, 303-311.
- Baurhoo, B., Phillip, L., & Ruiz-Feria, C. A. (2007). Effects of purified lignin and mannan oligosaccharides on intestinal integrity and microbial populations in the ceca and litter of broiler chickens. *Poultry Science*, 86(6), 1070-1078.
- Benites, V., Gilharry, R., Gernat, A. G., & Murillo, J. G. (2008). Effect of dietary mannan oligosaccharide from Bio-Mos or SAF-mannan on live performance of broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 17(4), 471-475.
- Berghman, L., Abi-Ghanem, D., Waghela, S., & Ricke, S. (2005). Antibodies: an alternative for antibiotics? *Poultry Science*, 84(4), 660-666.



- Berrang, M. E., Ladely, S. R., Meinersmann, R. J., & Fedorka-Cray, P. J. (2007). Subtherapeutic Tylosin phosphate in broiler feed affects *Campylobacter* on carcasses during processing. *Poultry Science*, 86(6), 1229-1233.
- Bielke, L., Elwood, A., Donoghue, D., Donoghue, A., Newberry, L., Neighbor, N., *et al.* (2003). Approach for selection of individual enteric bacteria for competitive exclusion in turkey poults. *Poultry Science*, 82(9), 1378-1382.
- Biggs, P., & Parsons, C. M. (2008). The effects of several organic acids on growth performance, nutrient digestibilities, and cecal microbial populations in young chicks. *Poultry Science*, 87(12), 2581-2589.
- Bohnhoff, M., Miller, C. P., & Martin, W. R. (1964). Resistance of the mouse's intestinal tract to experimental salmonella infection: I. factors which interfere with the initiation of infection by oral inoculation. *Journal of Experimental Medicine*, 120(5), 805-816.
- Bozkurt, M., Küçükyilmaz, K., Çatli, A. U., & Çinar, M. (2008). Growth performance and slaughter characteristics of broiler chickens fed with antibiotic, mannan oligosaccharide and dextran oligosaccharide supplemented diets. *International Journal of Poultry Science*, 7(10), 969-977.
- British United Turkeys. (2005a). Flock sample weighing (theory). Acedido em 1 de Outubro, 2009, disponível em <http://www.aviagen.com/docs/Flock%20Sample%20Weighing%20Theory.pdf>
- British United Turkeys. (2005b). Measuring bodyweight variation. Acedido em 1 de Outubro, 2009, disponível em <http://www.aviagen.com/docs/Measuring%20Body%20Weight%20Variation.pdf>
- British United Turkeys. (2008a). B.U.T. 9 commercial performance goals (5th ed.). Tattenhall, UK.
- British United Turkeys. (2008b). B.U.T. 10 commercial performance goals. Acedido em 1 de Outubro, 2009, disponível em <http://www.aviagen.com/docs/BUT10%20Commercial%20Goals.pdf>
- Burch, D., Young, S., & Watson, E. (2007). Treatment of histomonosis in turkeys with tiamulin. *Veterinary Record*, 161(25), 864.
- Cardozo, E. C. (2006). *Utilização de probiótico (Bacillus subtilis) como aditivo alimentar em dietas de frangos*. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.
- Carli, E. M. (2006). *Utilização de Lactobacillus paracasei como probiótico para controle de Salmonella spp. em frangos de corte*. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria RS, Brasil.
- Casewell, M., Friis, C., Marco, E., McMullin, P., & Phillips, I. (2003). The european ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52(2), 159-161.
- Castro-Calda, E. (Ed.) (1995) Enciclopédia Luso-Brasileira de Cultura (Vols. 1). Lisboa - São Paulo: Editorial Verbo.pp.727-735
- Chen, K.-L., Kho, W.-L., You, S.-H., Yeh, R.-H., Tang, S.-W., & Hsieh, C.-W. (2009). Effects of *Bacillus subtilis* var. *natto* and *Saccharomyces cerevisiae* mixed fermented feed on the enhanced growth performance of broilers. *Poultry Science*, 88(2), 309-315.
- Chichlowski, M., Croom, J., McBride, B. W., Daniel, L., Davis, G., & Koci, M. D. (2007). Direct-fed microbial PrimaLac and Salinomycin modulate whole-body and intestinal oxygen consumption and intestinal mucosal cytokine production in the broiler chick. *Poultry Science*, 86(6), 1100-1106.



- Chichlowski, M., Croom, W. J., Edens, F. W., McBride, B. W., Qiu, R., Chiang, C. C., *et al.* (2007). Microarchitecture and spatial relationship between bacteria and ileal, cecal, and colonic epithelium in chicks fed a direct-fed microbial, PrimaLac, and Salinomycin. *Poultry Science*, 86(6), 1121-1132.
- Clegg, S., & Gerlach, G. F. (1987). Enterobacterial fimbriae. *Journal of Bacteriology*, 169(3), 934-938.
- Close, W. H. (2000). Producing pigs without antibiotic growth promoters. *Advances in Pork Production*, 11, 47-56.
- Coates, M. E., Fuller, R., Harrison, G. F., Lev, M., & Suffolk, S. F. (1963). A comparison of the growth of chicks in the Gustafsson germ-free apparatus and in a conventional environment, with and without dietary supplements of penicillin. *British Journal of Nutrition*, 17(01), 141-150.
- Conway, P. L. (1996). Selection criteria for probiotic microorganisms. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 5, 10-14.
- Conway, P. L., Gorbach, S. L., & Goldin, B. R. (1987). Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells. *Journal of Dairy Science*, 70(1), 1-12.
- Corrier, D. E., Hollister, A. G., Nisbet, D. J., Scanlan, C. M., Beier, R. C., & DeLoach, J. R. (1994). Competitive exclusion of *Salmonella enteritidis* in leghorn chicks: comparison of treatment by crop gavage, drinking water, spray, or lyophilized alginate beads. [Abstract]. *Avian Diseases*, 38(2), 297-303.
- Cox, N. A., Bailey, J. S., & Stern, N. J. (2001). Effectiveness of an undefined mucosal competitive exclusion treatment to control *Salmonella* in turkeys during brooding. *Journal of Applied Poultry Research*, 10(4), 319-322.
- Cumpănăsoiu, C., Tîrziu, E., Nichita, I., & Şereş, M. (2009). Probiotics influence upon the main technicoeconomic parameters in broiler breeding. *Zootehnie şi Biotehnologii*, 42(341-344).
- Dahiya, J. P., Wilkie, D. C., Van Kessel, A. G., & Drew, M. D. (2006). Potential strategies for controlling necrotic enteritis in broiler chickens in post-antibiotic era. *Animal Feed Science and Technology*, 126, 60-80.
- Darwin, C. (1901). Origin of Species by Means of Natural Selection: Or the Preservation of Favored Races in the Struggle for Life. In P.F. Collier and Son (Eds.) Acedido em 12 de Setembro, 2009, disponível em <http://www.questia.com/PM.qst?a=o&d=56433981>
- de los Santos, J. R. G., & Gil-Turnes, C. (2005). Probióticos em avicultura. *Ciência Rural*, 35(3), 741-747.
- Dibner, J., & Richards, J. (2005). Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poultry Science*, 84(4), 634-643.
- Dionizio, M. A., Bertechini, A. G., Kanjikato, R., & Teixeira, A. S. (2002). Prebióticos como promotores de crescimento para frangos de corte - desempenho e rendimento de carcaça. *Ciência e Agrotecnologia, Edição Especial*, 1580-1587.
- Direção geral de Veterinária [DGV]. (2005). *Biossegurança nas explorações avícolas*. Lisboa: DGV.
- Dizaji, S. B., & Piromohammadi, R. (2009). Effect of *Saccharomyces cerevisiae* and Bioplus 2B on performance of laying hens. *International Journal of Agriculture & Biology*, 11(4), 495-497.
- Donalson, L. M., McReynolds, J. L., Kim, W. K., Chalova, V. I., Woodward, C. L., Kubena, L. F., *et al.* (2008). The influence of a fructooligosaccharide prebiotic combined with



- alfalfa molt diets on the gastrointestinal tract fermentation, *Salmonella enteritidis* infection, and intestinal shedding in laying hens. *Poultry Science*, 87(7), 1253-1262.
- Dorhoi, A., Dobrean, V., Zhan, M., & Virag, P. (2006). Modulatory effects of several herbal extracts on avian peripheral blood cell immune responses [Abstract]. *Phytotherapy Research*, 20(5), 352-358.
- Duca, I. (2006). The influence of Acid Pak 4 -way addition, on technological and biochemical parameters aquired at broilers. *Buletin USAMV-CN*, 63, 37-41.
- Edens, F. W. (2003). An alternative for antibiotic use in poultry: probiotics. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 5, 75-97.
- Edens, F. W., Parkhurst, C. R., Casas, I. A., & Dobrogosz, W. J. (1997). Principles of *ex ovo* competitive exclusion and *in ovo* administration of *Lactobacillus reuteri*. *Poultry Science*, 76(1), 179-196.
- Eeckhaut, V., Van Immerseel, F., Dewulf, J., Pasmans, F., Haesebrouck, F., Ducatelle, R., *et al.* (2008). Arabinoxyloligosaccharides from wheat bran inhibit *Salmonella* colonization in broiler chickens. *Poultry Science*, 87(11), 2329-2334.
- Elliott, S. D., & Barnes, E. M. (1959). Changes in serological type and antibiotic resistance of lancefield group D *Streptococci* in chickens receiving dietary chlortetracycline. *Journal of General Microbiology* 20, 425-433.
- Elsheikha, H. M., Abbas, A. T., Aziz, M. M. A., & Elshabiny, L. M. (2008). Therapeutic efficacy of chicken egg yolk immunoglobulins against *Mycoplasma gallisepticum* infection in chickens. *International Journal of Poultry Science*, 7(6), 548-554.
- Farm Welfare Animal Council (FWAC). (1995). *Report on the welfare of turkeys*. em 29 de outubro de 2009, disponível em <http://www.fawc.org.uk/reports/turkeys/turkrtoc.htm>
- Fernandez-Rubio, C., Ordonez, C., Abad-Gonzalez, J., Garcia-Gallego, A., Honrubia, M. P., Mallo, J. J., *et al.* (2009). Butyric acid-based feed additives help protect broiler chickens from *Salmonella Enteritidis* infection. *Poultry Science*, 88(5), 943-948.
- Finlay, B. B., & Falkow, S. (1989). Common themes in microbial pathogenicity. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 53(2), 210-230.
- Fleming, B. (2008). Intestinal integrity 'Holy Grail' for broiler growers. *Poultry World*, 162(5), 28-29.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2007a). Dramatic changes in global meat production could increase risk of diseases. Acedido em 12 de Junho, 2009, disponível em <http://www.fao.org/newsroom/en/news/2007/1000660/index.html>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2007b). Food Outlook - November 2007. Acedido em 12 de Junho, 2009, disponível em <http://www.fao.org/docrep/010/ah876e/ah876e08.htm>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2009). FAO's Animal Production and Health Division:meat & meat products. Acedido em 12 de Junho, 2009, disponível em <http://www.fao.org/ag/AGInfo/themes/en/meat/background.html>
- Frenzen, P. D., Drake, A., Angulo, F. J., & The emerging infections program foodnet working group. (2005). Economic cost of Illness due to *Escherichia coli* O157 infections in the United States. *Journal of Food Protection*, 69(12), 2623-2630.
- Freter, R. (1956). Coproantibody and bacterial antagonism as protective factors in experimental enteric cholera. *Journal of Experimental Medicine*, 104(3), 419-426.
- Fritts, C. A., Kersey, J. H., Motl, M. A., Kroger, E. C., Yan, F., Si, J., *et al.* (2000). *Bacillus subtilis* C-3102 (Calsporin) improves live performance and microbiological status of broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 9(2), 149-155.



- Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals *Journal of Applied Bacteriology*, 66(5), 365-378.
- Fuller, R. (1995). Probiotics: their development and use. In R. Fuller, P. J. Heidt, V. Rusch & D. van der Waaij (Eds.), Probiotics: prospects of use in opportunistic infections Acedido em 19 de Stembro, 2009, disponível em http://www.old-herborn-university.de/literature/books/OHUni_book_8_article_1.pdf
- Fuller, R. (2001). The chicken gut microflora and probiotic supplements. *The Journal of Poultry Science*, 38(3), 189-196.
- Galanis, E. (2007). *Campylobacter* and bacterial gastroenteritis. *Canadian Medical Association Journal*, 177(6), 570-571.
- Gao, J., Zhang, H. J., Yu, S. H., Wu, S. G., Yoon, I., Quigley, J., *et al.* (2008). Effects of yeast culture in broiler diets on performance and immunomodulatory functions. *Poultry Science*, 87(7), 1377-1384.
- Garfias, C. R. B., González, M. T. A., Castro, L. T., Rodríguez, O. I., & Ramírez, E. R. (2003). Comparación entre el efecto de *Lactobacillus casei* y el de una vacuna comercial en pollos contra la coccidiosis *Técnica Pecuaria en México*, 41, 317-327.
- Gaskins, H. R., Collier, C. T., & Anderson, D. B. (2002). Antibiotics as growth promotants: mode of action. *Animal Biotechnology*, 13(1), 29 - 42.
- Gibson, G. R., & Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125(6), 1401-1412.
- Gleeson, T. M., Stavric, S., & Blanchfield, B. (1989). Protection of chicks against *Salmonella* infection with a mixture of pure cultures of intestinal bacteria. [Abstract]. *Avian Diseases*, 33(4), 636-642.
- Gomez-Verduzco, G., Cortes-Cuevas, A., Lopez-Coello, C., Avila-Gonzalez, E., & Nava, G. (2009). Dietary supplementation of mannan-oligosaccharide enhances neonatal immune responses in chickens during natural exposure to *Eimeria spp.* *Acta Veterinaria Scandinavica*, 51(1), 11.
- Grimes, J. L., Rahimi, S., Oviedo, E., Sheldon, B. W., & Santos, F. B. O. (2008). Effects of a direct-fed microbial (Primalac) on turkey poult performance and susceptibility to oral *Salmonella* challenge. *Poultry Science*, 87(7), 1464-1470.
- Haghighi, H. R., Gong, J., Gyles, C. L., Hayes, M. A., Sanei, B., Parvizi, P., *et al.* (2005). Modulation of antibody-mediated immune response by probiotics in chickens. *Clinical and Vaccine Immunology*, 12(12), 1387-1392.
- Haghighi, H. R., Gong, J., Gyles, C. L., Hayes, M. A., Zhou, H., Sanei, B., *et al.* (2006). Probiotics stimulate production of natural antibodies in chickens. *Clinical and Vaccine Immunology*, 13(9), 975-980.
- Hamann, L., EL-Samalouti, V., Ulmer, A. J., Flad, H.-D., & Rietschel, E. T. (1998). Components of gut bacteria as immunomodulators. [Abstract]. *International Journal of Food Microbiology*, 41(2), 141-154
- Hardin, G. (1960). The competitive exclusion principle. *Science*, 131(3409), 1292-1297.
- Hill, J. E., Hemmingsen, S. M., Goldade, B. G., Dumonceaux, T. J., Klassen, J., Zijlstra, R. T., *et al.* (2005). Comparison of ileum microflora of pigs fed corn-, wheat-, or barley-based diets by chaperonin-60 sequencing and quantitative PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(2), 867-875.



- Hofacre, C. L., Beacorn, T., Collett, S., & Mathis, G. (2003). Using competitive exclusion, Mannan-Oligosaccharide and other intestinal products to control Necrotic Enteritis. *Journal of Applied Poultry Research*, 12(1), 60-64.
- Hofacre, C. L., Froyman, R., George, B., Goodwin, M. A., & Brown, J. (1998). Use of Aviguard, Virginiamycin, or Bacitracin MD against *Clostridium perfringens*-associated Necrotizing Enteritis. *Journal of Applied Poultry Research*, 7(4), 412-418.
- Hofacre, C. L., Primm, N. D., Vance, K., Goodwin, M. A., & Brown, J. (2000). Comparison of a lyophilized chicken-origin competitive exclusion culture, a lyophilized probiotic, and fresh turkey cecal material against *Salmonella* colonization. *Journal of Applied Poultry Research*, 9(2), 195-203.
- Hollister, A., Corrier, D., Nisbet, D., & DeLoach, JR. (1999). Effects of chicken-derived cecal microorganisms maintained in continuous culture on cecal colonization by *Salmonella typhimurium* in turkey poults. *Poultry Science*, 78(4), 546-549.
- Hong, H. A., Duc, L. H., & Cutting, S. M. (2005). The use of bacterial spore formers as probiotics. [Abstract]. *FEMS Microbiology Reviews*, 29(4), 813-835.
- Hooge, D. M., Ishimaru, H., & Sims, M. D. (2004). Influence of dietary *Bacillus subtilis* C-3102 spores on live performance of broiler chickens in four controlled pen trials. *Journal of Applied Poultry Research*, 13(2), 222-228.
- Huff, W. E., Huff, G. R., Rath, N. C., Balog, J. M., & Donoghue, A. M. (2005). Alternatives to antibiotics: utilization of bacteriophage to treat colibacillosis and prevent foodborne pathogens. *Poultry Science*, 84(4), 655-659.
- Huff, W. E., Huff, G. R., Rath, N. C., & Donoghue, A. M. (2006). Evaluation of the influence of bacteriophage titer on the treatment of colibacillosis in broiler chickens. *Poultry Science*, 85(8), 1373-1377.
- Iafigliola, M., Menten, J., Racanicci, A., & Gaiotto, J. (2000). Cobre e antibiótico como promotores de crescimento em rações para frangos de corte. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 2, 201-208.
- Impey, C. S., Mead, G. C., & George, S. M. (1982). Competitive exclusion of *Salmonellas* from the chick caecum using a defined mixture of bacterial isolates from the caecal microflora of an adult bird. *The Journal of Hygiene*, 89(3), 479-490.
- Instituto Nacional de Estatística. (2009). *Consumo humano de carne per capita (kg/ hab.) por tipo de carnes* Lisboa, Portugal: INE.
- Instituto Nacional de Estatística. (2008). *Estatísticas agrícolas de 2007*. Lisboa, Portugal: INE.
- ISO 6579:2002 / Amd.1:2007. (2002). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland.
- Isolauri, E., Sutas, Y., Kankaanpää, P., Arvilommi, H., & Salminen, S. (2001). Probiotics: effects on immunity. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2), 444-450.
- Janardhana, V., Broadway, M. M., Bruce, M. P., Lowenthal, J. W., Geier, M. S., Hughes, R. J., et al. (2009). Prebiotics modulate immune responses in the gut-associated lymphoid tissue of chickens. [Abstract]. *Journal of Nutrition*, 139(7), 1404-1409.
- Jia, W., Slominski, B. A., Bruce, H. L., Blank, G., Crow, G., & Jones, O. (2009). Effects of diet type and enzyme addition on growth performance and gut health of broiler chickens during subclinical *Clostridium perfringens* challenge. *Poultry Science*, 88(1), 132-140.



- Jin, L. Z., Ho, Y. W., Abdullah, N., & Jalaludin, S. (1998). Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing *Lactobacillus* cultures. *Poultry Science*, 77(9), 1259-1265.
- Jin, L. Z., Ho, Y. W., Abdullah, N., & Jalaludin, S. (2000). Digestive and bacterial enzyme activities in broilers fed diets supplemented with *Lactobacillus* cultures. *Poultry Science*, 79(6), 886-891.
- Joerger, R. (2003). Alternatives to antibiotics: bacteriocins, antimicrobial peptides and bacteriophages. *Poultry Science*, 82(4), 640-647.
- Jones, F., & Ricke, S. (2003). Observations on the history of the development of antimicrobials and their use in poultry feeds. *Poultry Science*, 82(4), 613-617.
- Jukes, T. H., & Williams, W. L. (1953). Nutricional effects of antibiotics. *Pharmacological Reviews*, 5(4), 381-420.
- Kačániová, M., Petrová, J., Haščík, P., Čuboň, J., & Pavličová, S. (2006). Colonization of gastrointestinal tract of turkeys after probiotics and prebiotics application. *Slovak Journal of Animal Sciences*, 39(3), 155 - 159.
- Karimi, K., & Rahimi, S. H. (2003). The effect of various levels of probiotic on performance of broiler chicks. [Abstract]. *Animal and Fisheries Sciences* 16(60), 90-94.
- Kim, P. I., Jung, M. Y., Chang, Y.-H., Kim, S., Kim, S.-J., & Park, Y.-H. (2007). Probiotic properties of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains isolated from porcine gastrointestinal tract. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74, 1103–1111.
- Kulkarni, R. R., Parreira, V. R., Sharif, S., & Prescott, J. F. (2008). Oral immunization of broiler chickens against necrotic enteritis with an attenuated *Salmonella* vaccine vector expressing *Clostridium perfringens* antigens. *Vaccine*, 26, 4194-4203.
- Kummerer, K. (2003). Significance of antibiotics in the environment. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52(1), 5-7.
- Langlois, B. E., Cromwell, G. L., Stahly, T. S., Dawson, K. A., & Hays, V. W. (1983). Antibiotic resistance of fecal coliforms after long-term withdrawal of therapeutic and subtherapeutic antibiotic use in a swine herd. *Applied and Environmental Microbiology*, 46(6), 1433-1434.
- Lee, S. H., Lillehoj, H. S., Dalloul, R. A., Park, D. W., Hong, Y. H., & Lin, J. J. (2007). Influence of *Pediococcus*-based probiotic on coccidiosis in broiler chickens. *Poultry Science*, 86(1), 63-66.
- Lee, Y. K., Lim, C. Y., Teng, W. L., Ouwehand, A. C., Tuomola, E. M., & Salminen, S. (2000). Quantitative approach in the study of adhesion of lactic acid bacteria to intestinal cells and their competition with enterobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(9), 3692–3697.
- Li, L., Xu, C. L., Ji, C., Ma, Q., Hao, K., Jin, Z. Y., *et al.* (2006). Effects of a dried *Bacillus subtilis* culture on egg quality. *Poultry Science*, 85(2), 364-368.
- Li, S. P., Zhao, X. J., & Wang, J. Y. (2009). Synergy of *Astragalus* polysaccharides and probiotics (*Lactobacillus* and *Bacillus cereus*) on immunity and intestinal microbiota in chicks. *Poultry Science*, 88(3), 519-525.
- Lilly, D. M., & Stillwell, R. H. (1965). Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science*, 147(3659), 747-748.
- Loa, C. C., Lin, T. L., Wu, C. C., Bryan, T., Thacker, H. L., Hooper, T., *et al.* (2001). Humoral and cellular immune responses in turkey poults. *Poultry Science*, 80:1416–1424.



- Lockie, S., Lyons, K., Lawrence, G., & Mummery, K. (2002). Eating "green": motivations behind organic food consumption in Australia. *Sociologia Ruralis*, 42(1), 23-40.
- Lovland, A., & Kaldhusdal, M. (2001). Severely impaired production performance in broiler flocks with high incidence of *Clostridium perfringens*-associated hepatitis. *Avian Pathology*, 30, 73-81.
- Lu, J., Idris, U., Harmon, B., Hofacre, C. L., Maurer, J. J., & Lee, M. D. (2003). Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(11), 6816-6824.
- Maiorka, A., Santin, E., Sugeta, S., Almeida, J., & Macari, M. (2001). Utilização de prebióticos, probióticos ou simbióticos em dietas para frangos. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 3, 75-82.
- McCormick, J. K., Klaenhammer, T. R., & Stiles, M. E. (1999). Colicin V can be produced by lactic acid bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 29(1), 37-41.
- McDougald, L. R. (2003). Other protozoan diseases of the intestinal tract- Histomoniasis (Blackhead Disease). In Y. M. Saif (Ed.), *Poultry Diseases* (11th ed., pp. 1001-1006). Iowa: Blackwell Publishing Company.
- McMullen, L. M. (2000). Intervention strategies to improve the safety of pork. *Advances in Pork Production*, 11, 165-173.
- Metchnikoff, É. (1907). Essais optimistes. In A. Maloine (Eds.) Acedido em 14 de Setembro, 2009, disponível em <http://www.archive.org/stream/essaisoptimiste00metcgoog#page/n15/mode/2up>
- Miles, R., Butcher, G., Henry, P., & Littell, R. (2006). Effect of antibiotic growth promoters on broiler performance, intestinal growth parameters, and quantitative morphology. *Poult Science*, 85(3), 476-485.
- Mountzouris, K. C., Tsirtsikos, P., Kalamara, E., Nitsch, S., Schatzmayr, G., & Fegeros, K. (2007). Evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. *Poultry Science*, 86(2), 309-317.
- Murley, W. R., Jacobson, N. L., & Allen, R. S. (1952). The effect of aureomycin supplementation on growth and feed utilization of young dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 35(10), 846-856.
- Mutus, R., Kocabagli, N., Alp, M., Acar, N., Eren, M., & Gezen, S. S. (2006). The effect of dietary probiotic supplementation on tibial bone characteristics and strength in broilers. *Poultry Science*, 85(9), 1621-1625.
- Naidoo, V., McGaw, L. J., Bisschop, S. P. R., Duncan, N., & Eloff, J. N. (2008). The value of plant extracts with antioxidant activity in attenuating coccidiosis in broiler chickens. *Veterinary Parasitology*, 153, 214-219.
- Nakamura, A., Ota, Y., Mizukami, A., Ito, T., Ngwai, Y., & Adachi, Y. (2002). Evaluation of Aviguard, a commercial competitive exclusion product for efficacy and after-effect on the antibody response of chicks to *Salmonella*. *Poultry Science*, 81(11), 1653-1660.
- Oliveira, M. C., Figueiredo-Lima, D. F., Faria Filho, D. E., Marques, R. H., & Moraes, V. M. B. (2009). Effect of mannanoligosaccharides and/or enzymes on antibody titers against infectious bursal and Newcastle disease viruses. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 61, 6-11.



- Parks, C., Grimes, J., & Ferket, P. (2005). Effects of virginiamycin and a mannanoligosaccharide-virginiamycin shuttle program on the growth and performance of large white female turkeys. *Poultry Science*, 84(12), 1967-1973.
- Patterson, J., & Burkholder, K. (2003). Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poultry Science*, 82(4), 627-631.
- Pattnaik, P., Kaushik, J. K., Grover, S., & Batish, V. K. (2001). Purification and characterization of a bacteriocin-like compound (Lichenin) produced anaerobically by *Bacillus licheniformis* isolated from water buffalo. *Journal of Applied Microbiology*, 91(4), 636-645.
- Pedroso, A., Menten, J., Lambais, M., Racanicci, A., Longo, F., & Sorbara, J. (2006). Intestinal bacterial community and growth performance of chickens fed diets containing antibiotics. *Poultry Science*, 85(4), 747-752.
- Pedroso, A., Menten, J., Racanicci, A., Longo, F., Sorbara, J., & Gaiotto, J. (2003). Performance and organ morphology of broilers fed microbial or antimicrobial additives and raised in batteries or floor pens. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 5, 111-117.
- Prakash, S. K. (2006). Effects of herbal extracts towards microbicidal activity against pathogenic *Escherichia coli* in poultry. *International Journal of Poultry Science*, 5(3), 259-261.
- Rahimi, S., Grimes, J. L., Fletcher, O., Oviedo, E., & Sheldon, B. W. (2009). Effect of a direct-fed microbial (Primalac) on structure and ultrastructure of small intestine in turkey poult. *Poultry Science*, 88(3), 491-503.
- Rahimi, S., & Khaksefidi, A. (2006). A comparison between the effects of a probiotic (Bioplus 2B) and an antibiotic (virginiamycin) on the performance of broiler chickens under heat stress condition. *Iranian Journal of Veterinary Research* 7(3), 23-28.
- Rantala, M., & Nurmi, E. (1973). Prevention of the growth of *Salmonella infantis* in chicks by the flora of the alimentary tract of chickens. [Abstract]. *British Poultry Science*, 14(6), 627 - 630.
- Regulamento (CE) N.º 584/2008. Jornal Oficial da União Europeia nº L162. Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia. Bruxelas.
- Regulamento (CE) N.º 2160/2003 . Jornal Oficial da União Europeia nº L325. Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia. Bruxelas.
- Regulamento (CE) N.º 1831/2003. Jornal Oficial da União Europeia nº L268. Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia. Bruxelas.
- Revington, B. (2002). *Feeding poultry in the post-antibiotic era*. Paper presented at the Multi-State Poultry Meeting, Indiana, U.S.A. pp.219
- Revolledo, L., Ferreira, A. J. P., & Mead, G. C. (2006). Prospects in *Salmonella* control: competitive exclusion, probiotics, and enhancement of avian intestinal immunity. *Journal of Applied Poultry Research*, 15(2), 341-351.
- Rolfe, R. D. (2000). The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *Journal of Nutrition*, 130(2), 396-.
- Rusoff, L. L., Davis, A. V., & Alford, J. A. (1951). Growth-promoting effect of aureomycin on young calves weaned from milk at an early age: one figure. *Journal of Nutrition*, 45(2), 289-300.
- Russell, S. (2003). The effect of airsacculitis on bird weights, uniformity, fecal contamination, processing errors, and populations of *Campylobacter spp.* and *Escherichia coli*. *Poultry Science*, 82(8), 1326-1331.



- Saavedra, J. M. (2001). Clinical applications of probiotic agents. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73(6), 1147-1151.
- Šabatková, J., Kumprecht, I., Zobač, P., Suchý, P., & Čermák, B. (2008). The probiotic Bioplus 2B as an alternative to antibiotics in diets for broiler chickens. *Acta Veterinaria Brno*, 77, 569-574.
- Salanitro, J. P., Blake, I. G., Muirehead, P. A., Maglio, M., & Goodman, J. R. (1978). Bacteria isolated from the duodenum, ileum, and cecum of young chicks. *Applied and Environmental Microbiology*, 35(4), 782-790.
- Santos, I. I. (2002). *Promotores de crescimento na alimentação de frango de corte: desempenho zootécnico e análise de resíduos (antimicrobianos) na cama de aviário.*, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil.
- Schneitz, C., & Hakkinen, M. (1998). Comparison of two different types of competitive exclusion products. *Letters in Applied Microbiology*, 26(5), 338-341.
- Schneitz, C., Kiiskinen, T., Toivonen, V., & Nasi, M. (1998). Effect of Broilact on the physicochemical conditions and nutrient digestibility in the gastrointestinal tract of broilers. *Poultry Science*, 77(3), 426-432.
- Schoeni, J. L., & Wong, A. C. L. (1994). Inhibition of *Campylobacter jejuni* colonization in chicks by defined competitive exclusion bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(4), 1191-1197.
- Schrezenmeir, J., & de Vrese, M. (2001). Probiotics, prebiotics, and synbiotics-approaching a definition. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2), 361-364.
- Schulz, D., Bonelli, R. R., & Batista, C. R. V. (2005). Bacteriocinas e enzimas produzidas por *Bacillus spp.* para conservação e processamento de alimentos. *Alimentos e Nutrição*, 16(4), 403-411.
- Shane, M. S. (2005). Re-emergence of necrotic enteritis in the broiler industry. *International Journal of Poultry Science*, 4(9), 604-611.
- Shinohara, N. K. S., Barros, V. B. d., Jimenez, S. M. C., Machado, E. d. C. L., Dutra, R. A. F., & Lima Filho, J. L. d. (2008). *Salmonella spp.*, importante agente patogênico veiculado em alimentos. *Ciência & Saúde Coletiva*, 13, 1675-1683.
- Silva, C. R., & Pinheiro, A. L. B. C. (2008). Utilização de probióticos como melhoradores de desempenho em aves. *Revista Eletrônica Nutritime*, 5(6), 690-706. Acedido em 18 de Setembro, 2009, disponível em http://www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/069V5N6P690706NOV2008.pdf
- Simon, O. (2005). Micro-organisms as feed additives – probiotics. *Advances in Pork Production*, 16, 161-167.
- Sims, M., Dawson, K., Newman, K., Spring, P., & Hoogell, D. (2004). Effects of dietary mannan oligosaccharide, bacitracin methylene disalicylate, or both on the live performance and intestinal microbiology of turkeys. *Poultry Science*, 83(7), 1148-1154.
- Singer, R. S., & Hofacre, C. L. (2006). Potential impacts of antibiotic use in poultry production. *Avian diseases*, 50, 161-172.
- Spring, P., Wenk, C., Dawson, K., & Newman, K. (2000). The effects of dietary mannaoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of *Salmonella*-challenged broiler chicks. *Poultry Science*, 79(2), 205-211.
- Starr, M. P., & Reynolds, D. M. (1951). Streptomycin resistance os coliform bacteria from turkeys fed Streptomycin. *America Journal of Public Health*, 41, 1375 - 1379.



- Teixeira, C. (Ed.) (1995) Enciclopédia Luso-Brasileira de Cultura (Vols. 15). Lisboa - São Paulo: Editorial Verbo.
- Teo, A. Y.-L., & Tan, H.-M. (2005). Inhibition of *Clostridium perfringens* by a novel strain of *Bacillus subtilis* isolated from the gastrointestinal tracts of healthy chickens. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(8), 4185-4190.
- Teo, A. Y.-L., & Tan, H.-M. (2006). Effect of *Bacillus subtilis* PB6 (CloSTAT) on broilers infected with a pathogenic strain of *Escherichia coli*. *Journal of Applied Poultry Research*, 15(2), 229-235.
- Thomke, S., & Elwinger, K. (1998). Growth promotants in feeding pigs and poultry. *Annales de Zootechnie*, 47(3), 153-167.
- Timmerman, H. M., Veldman, A., van den Elsen, E., Rombouts, F. M., & Beynen, A. C. (2006). Mortality and growth performance of broilers given drinking water supplemented with chicken-specific probiotics. *Poultry Science*, 85(8), 1383-1388.
- Torjusen, H., Sangstad, L., Jensen, K. O. D., & Kjærnes, U. (2004). *European consumers' conceptions of organic food: A review of available research. Professional Report, no. 4-2004*. Oslo, Norway: National Institute for Consumer Research.
- Torres-Rodriguez, A. (2006). *Evaluation of selected probiotics and prebiotics for poultry performance*. University of Arkansas, Arkansas, United States
- Torres-Rodriguez, A., Donoghue, A. M., Donoghue, D. J., Barton, J. T., Tellez, G., & Hargis, B. M. (2007). Performance and condemnation rate analysis of commercial turkey flocks treated with a *Lactobacillus spp.*-based probiotic. *Poultry Science*, 86(3), 444-446.
- Torres-Rodriguez, A., Higgins, S. E., Vicente, J. L. S., Wolfenden, A. D., Gaona-Ramirez, G., Barton, J. T., *et al.* (2007). Effect of lactose as a prebiotic on turkey body weight under commercial conditions. *Journal of Applied Poultry Research*, 16(4), 635-641.
- Tsubokura, K., Berndtson, E., Gobstedt, A., Kaijser, T., Kim, M., Ozeki, M., *et al.* (1997). Oral administration of antibodies as prophylaxis and therapy in *Campylobacter jejuni*-infected chickens *Clinical and Experimental Immunology*, 108, 451-455.
- Van Immerseel, F., De Buck, J., Pasmans, F., Huyghebaert, G., Haesebrouck, F., & Ducatelle, R. (2004). *Clostridium perfringens* in poultry: an emerging threat for animal and public health. *Avian Pathology*, 33(6), 537 - 549.
- Van Immerseel, F., Russell, J. B., Flythe, M. D., Gantois, I., Timbermont, L., Pasmans, F., *et al.* (2006). The use of organic acids to combat *Salmonella* in poultry: a mechanistic explanation of the efficacy. *Avian Pathology*, 35(3), 182 - 188.
- Vicente, J., Higgins, S., Bielke, L., Tellez, G., Donoghue, D., Donoghue, A., *et al.* (2007). Effect of probiotic culture candidates on *Salmonella* prevalence in commercial turkey houses. *Journal of Applied Poultry Research*, 16(3), 471-476.
- Vicente, J., Wolfenden, A., Torres-Rodriguez, A., Higgins, S., Tellez, G., & Hargis, B. (2007). Effect of a *Lactobacillus* species-based probiotic and dietary lactose prebiotic on turkey poult performance with or without *Salmonella enteritidis* challenge. *Journal of Applied Poultry Research*, 16, 361-364.
- Vila, B., Fontgibell, A., Badiola, I., Esteve-Garcia, E., Jimenez, G., Castillo, M., *et al.* (2009). Reduction of *Salmonella enterica* var. *Enteritidis* colonization and invasion by *Bacillus cereus* var. *toyoi* inclusion in poultry feeds. *Poultry Science*, 88(5), 975-979.
- Wegener, H. C. (2003). Antibiotics in animal feed and their role in resistance development *Current Opinion in Microbiology*, 6(5), 439-445.



- Wierup, M. (2001). The swedish experience of the 1986 year ban of antimicrobial growth promoters, with special reference to animal health, disease prevention, productivity, and usage of antimicrobials. *Microbial Drug Resistance*, 7(2), 183-190.
- Williams, R. B. (1999). A compartmentalised model for the estimation of the cost of coccidiosis to the world's chicken production industry. *International Journal for Parasitology*, 29, 1209-1229.
- Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C., & Kroismayr, A. (2008). Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of Animal Science*, 86(14_suppl), E140-148.
- Wolfenden, A. D., Pixley, C. M., Higgins, J. P., Higgins, S. E., Vicente, J. L., Torres-Rodriguez, A., et al. (2007). Evaluation of spray application of a *Lactobacillus*-based probiotic on *Salmonella enteritidis* colonization in broiler chickens. *International Journal of Poultry Science*, 6(7), 493-496.
- Wolfgang, W. (2000). Ecological impact of antibiotic use in animals on different complex microflora: environment. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 14(4), 321-325.
- World Health Organization. (1997). *The medical impact of the use of antimicrobials in food animals: Report of a WHO meeting*. Berlim, Germany: WHO/EMC/ZOO.
- World Health Organization. (2002). Use of antimicrobials outside human medicine and resultant antimicrobial resistance in humans. Acedido em 11 de Setembro, 2009, disponível em <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs268/en/>
- Xu, Z., Hu, C., Xia, M., Zhan, X., & Wang, M. (2003). Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. *Poultry Science*, 82(6), 1030-1036.
- Yang, Y., Iji, P. A., & Choct, M. (2009). Dietary modulation of gut microflora in broiler chickens: a review of the role of six kinds of alternatives to in-feed antibiotics. *World's Poultry Science Journal*, 65(01), 97-114.
- Yogaratanam, V. (1995). Analysis of the causes of high rates of carcass rejection at a poultry processing plant. *Veterinary Record*, 137(9), 215-217.
- Yusrizal, & Chen, T. C. (2003). Effect of adding chicory fructans in feed on broiler growth performance, serum cholesterol and intestinal length. *International Journal of Poultry Science*, 2(3), 214-219.
- Zdunczyk, Z., Juskiewicz, J., Jankowski, J., Biedrzycka, E., & Koncicki, A. (2005). Metabolic response of the gastrointestinal tract of turkeys to diets with different levels of mannan-oligosaccharide. *Poultry Science*, 84(6), 903-909.
- Zhu, X. Y., Zhong, T., Pandya, Y., & Joerger, R. D. (2002). 16S rRNA-based analysis of microbiota from the cecum of broiler chickens. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(1), 124-137.



Anexo 1

1. Ficha de Higienização dos pavilhões

A) Preparação para Lavagem	✓	Data	Funcionário
1-Esvaziar silo, sem-fim, depósitos de água, canalizações			
2-Remoção de camas.			
3-Varrer exteriores do pavilhão e acessos(Tractor)			
4-Desmontar material (bebedouros, comedouros, etc.)			
B) Controlo de Pragas (Fumigação)			
1-Desratização			
2-Desinsectização			
C) Lavagem			
1-Interior			
2-Exterior			
3-Equipamentos			
D) Manutenção de estruturas			
1-Manutenção de equipamentos			
2-Tapar frestas (paredes, portas, redes)			
E) Desinfecção (1ª Etapa)			
1- Desinfecção química. (Dispersão -tractor).			
2-Cal (Interior, exterior, em torno do pavilhão, acessos).			
3- Desinfecção tubagens e depósitos de água (Sesoxy).			
4-Desinfecção silos (Fumigação)			
Equipamento protecção obrigatório			
F) Preparação do pavilhão			
1-Adicionar cama (8cm de profundidade, homogénea).			
2-Montagem círculos, bebedouros, aquecedores, etc.			
G) Desinfecção (2ª Etapa)			
1- Fumigação com Formol.			
F) Monitorização (Veterinário)			
1- Inspeção visual e Zaragatoas			
Observações Tratadores:			
Observações Veterinário:			



2. Ficha de controlo da biossegurança.

Semana 1			Semana 5		
Entradas Pessoal	Dia	Função	Entradas Pessoal	Dia	Função
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Manutenção	Dia	Observações	Manutenção	Dia	Observações
Limpeza Rodilúvios			Limpeza Rodilúvios		
Armadilhas ratos			Armadilhas ratos		
Pastilhas de Cloro			Pastilhas de Cloro		
Outras			Outras		
Semana 2			Semana 6		
Entradas Pessoal	Dia	Função	Entradas Pessoal	Dia	Função
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Manutenção	Dia	Observações	Manutenção	Dia	Observações
Limpeza Rodilúvios			Limpeza Rodilúvios		
Armadilhas ratos			Armadilhas ratos		
Pastilhas de Cloro			Pastilhas de Cloro		
Outras			Outras		
Semana 3			Semana 7		
Entradas Pessoal	Dia	Função	Entradas Pessoal	Dia	Função
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Manutenção	Dia	Observações	Manutenção	Dia	Observações
Limpeza Rodilúvios			Limpeza Rodilúvios		
Armadilhas ratos			Armadilhas ratos		
Pastilhas de Cloro			Pastilhas de Cloro		
Outras			Outras		
Semana 4			Semana 8		
Entradas Pessoal	Dia	Função	Entradas Pessoal	Dia	Função
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Pavilhão:			Pavilhão:		
Manutenção	Dia	Observações	Manutenção	Dia	Observações
Limpeza Rodilúvios			Limpeza Rodilúvios		
Armadilhas ratos			Armadilhas ratos		
Pastilhas de Cloro			Pastilhas de Cloro		
Outras			Outras		



Anexo 2

1. Composição do alimento composto de iniciação

Ingredientes	%
Trigo	5,00
Milho	43,10
Banha	0,60
Farinha de peixe 65%	9,50
Soja 46%	30,00
Soja integral	5,00
Lisina líquida	0,35
Treonina	0,02
Metionina líquida	0,33
Carbonato de cálcio	1,38
Fosfato monocálcio	1,25
Sal	0,10
Tecnilate (melhora aptência)	3,00
Tecnimold L (antifúngico)	0,05
Tecniox (antioxidante)	0,03
Tecnimix 11069 N (Premix)	0,30

3. Composição do alimento composto de crescimento

Ingredientes	%
Trigo	10,00
Milho	40,40
Banha	1,10
Óleo de soja	1,00
Farinha de peixe 65%	6,00
Soja 46%	32,40
Soja integral	5,00
Lisina líquida	0,17
Treonina	0,02
Metionina líquida	0,28
Carbonato de cálcio	1,85
Fosfato monocálcio	1,20
Sal	0,14
Bicarbonato de sódio	0,07
Tecnimold L (antifúngico)	0,05
Tecniox (antioxidante)	0,03
Tecnimix 11069 N (Premix)	0,30

2. Composição do alimento composto de arranque

Ingredientes	%
Trigo	5,00
Milho	41,80
Banha	0,60
Farinha de peixe 65%	9,50
Soja 46%	34,60
Soja integral	5,00
Lisina líquida	0,02
Treonina	0,02
Metionina líquida	0,30
Carbonato de cálcio	1,43
Fosfato monocálcio	1,25
Sal	0,10
Bicarbonato de sódio	0,01
Tecnimold L (antifúngico)	0,05
Tecniox (antioxidante)	0,03
Tecnimix 11069 N (Premix)	0,30

4. Composição do alimento composto de engorda

Ingredientes	%
Trigo	10,00
Milho	45,80
Banha	2,90
Farinha de peixe 65%	3,00
Girasol 30%	3,80
Soja 46%	26,10
Soja integral	5,00
Lisina líquida	0,26
Metionina líquida	0,27
Carbonato de cálcio	1,09
Fosfato monocálcio	1,10
Sal	0,21
Bicarbonato de sódio	0,10
Tecnimold L (antifúngico)	0,05
Tecniox (antioxidante)	0,03
Tecnimix 11084 N (Premix)	0,30



5. Composição (por 3 kg) da pré-mistura Tecnimix 11069 N. (incorporação 3 kg/t)

Ingredientes		
E672	Vitamina A	1200000 UI
E671	Vitamina D3	2400000 UI
	Vitamina E (alfatocoferol)	30000 mg
	Vitamina K3	2000 mg
	Vitamina B1	1500 mg
	Vitamina B2	5000 mg
	Vitamina B6	4000 mg
	Vitamina B12	20 mg
	Pantotenato de cálcio	15000 mg
	Ácido nicotínico	45000 mg
	Ácido fólico	1000mg
	Biotina	120 mg
	Betaina	232050 mg
E757	Monensina de sódio	100000 mg
E3	Cobalto (sulfato heptahidratado)	500 mg
E4	Cobre (sulfato pentahidratado)	8000 mg
E1	Ferro (sulfato pentahidratado)	5000 mg
E2	Iodo (iodeto de potássio)	860 mg
E5	Manganês (óxido)	80000 mg
E8	Selênio (selenito de sódio)	200 mg
E6	Zinco (óxido de zinco)	50000 mg
E1614	6 - Fitase EC 3.1.3.26	1000000 FYT
E320	BHA	378 mg
E324	Etoxiquina	378 mg
E330	Ácido cítrico	
E471	Mono e diglicéridos e ácidos gordos	
E338	Ácido ortofosfórico	
E554	Sílica (silicato de sódio e alumínio sintético)	
	MOS/FOS	
	Óleos essenciais	



6. Composição (por 3 kg) da pré-mistura Tecnimix 11084 N. (incorporação 3 kg/t)

Ingredientes		
E672	Vitamina A	1200000 UI
E671	Vitamina D3	2400000 UI
	Vitamina E (alfatocoferol)	30000 mg
	Vitamina K3	2000 mg
	Vitamina B1	1500 mg
	Vitamina B2	5000 mg
	Vitamina B6	4000 mg
	Vitamina B12	20 mg
	Pantotenato de cálcio	15000 mg
	Ácido nicotínico	45000 mg
	Ácido fólico	1000mg
	Biotina	120 mg
	Betaina	232050 mg
E771	Diclazuril	1000 mg
E3	Cobalto (sulfato heptahidratado)	500 mg
E4	Cobre (sulfato pentahidratado)	8000 mg
E1	Ferro (sulfato pentahidratado)	5000 mg
E2	Iodo (iodeto de potássio)	860 mg
E5	Manganês (óxido)	80000 mg
E8	Selênio (selenito de sódio)	200 mg
E6	Zinco (óxido de zinco)	50000 mg
E1614	6 - Fitase EC 3.1.3.26	1000000 FYT
E320	BHA	378 mg
E324	Etoxiquina	378 mg
E330	Ácido cítrico	
E471	Mono e diglicéridos e ácidos gordos	
E338	Ácido ortofosfórico	
E554	Sílica (silicato de sódio e alumínio sintético)	
	MOS/FOS	
	Óleos essenciais	



Anexo 3

1. Índices produtivos dos perus (fêmeas) da estirpe BUT-10.

Age (Weeks)	Liveweight (kg)	Daily Gain (g/day)	Cumulative FCR		Age (Days)
			Feed A*	Feed B*	
1	0.14	19.41	0.91	0.94	7
2	0.31	22.33	1.20	1.24	14
3	0.58	27.42	1.35	1.41	21
4	0.94	33.45	1.47	1.53	28
5	1.40	40.10	1.54	1.62	35
6	1.97	46.98	1.61	1.71	42
7	2.63	53.69	1.68	1.79	49
8	3.35	59.88	1.76	1.88	56
9	4.11	65.30	1.83	1.97	63
10	4.89	69.89	1.90	2.06	70
11	5.67	73.69	1.98	2.16	77
12	6.45	76.77	2.07	2.26	84
13	7.21	79.22	2.15	2.37	91
14	7.95	81.10	2.25	2.48	98
15	8.66	82.47	2.35	2.59	105
16	9.34	83.36	2.45	2.71	112
17	9.95	83.57	2.55	2.83	119
18	10.50	83.35	2.65	2.96	126

Tabela disponível em <http://www.aviagen.com/docs/BUT10%20Commercial%20Goals.pdf>

* Ver as recomendações nutricionais típicas para valores de energia metabolizável das rações A & B em <http://www.aviagen.com/docs/Nutrition%20Tables%20for%20Commercials%20V09.pdf>.



Anexo 4

1. Ficha técnica do Aviguard

1 - Denominação comercial

Aviguard® 0,05

Aviguard® 2

Aviguard® 5

Aviguard® 10

2 - Composição qualitativa e quantitativa de todos os componentes do produto

Aviguard® é composto por flora intestinal normal de aves. Apresenta-se em saquetas com pó liofilizado destinadas a administração a 50, 2000, 5000 e 10000 aves. O excipiente de suporte é constituído por maltodextrina.

3 - Tipo de formulação, apresentação, inflamabilidade e respectivo símbolo

Tipo de formulação e apresentação:

Aviguard® apresenta-se na forma de pó liofilizado solúvel, em embalagens de 50 (15g), 2000 (25g), 5000 (62,5g) e 10000 (125g) doses. Aviguard® é constituído por uma flora intestinal saprófita, viva, obtida a partir de aves SPF (livre de germens patogénicos) e produzida por fermentação anaeróbica, seguida de liofilização.

Inflamabilidade:

Não aplicável.

4 - Propriedades farmacológicas

Aviguard é constituído por flora intestinal saprófita, viva, obtida a partir de aves SPF (livre de microrganismos patogénicos) e produzida por fermentação anaeróbica, seguida de liofilização.

5 - Tipo de utilização

Aplicação sobre as aves em spray de gota grossa imediatamente após a eclosão ou através da água de bebida em aves jovens ou adultas.

6 - Indicações com referência às espécies

Aviguard® destina-se a estabelecer, conservar ou restabelecer uma flora intestinal normal e equilibrada em frangos e perus.

7 - Contra-indicações e efeitos secundários

▪ Contra-indicações

Não se conhecem.

▪ Efeitos secundários

Não se conhecem.



8 - Precauções especiais aquando da sua utilização nomeadamente durante a gestação, lactação, postura, convalescença

Não aplicável.

9 - Doses de aplicação e modo de emprego

O conteúdo de uma saqueta de Aviguard® 0,05 tem a quantidade suficiente para administrar a 50 frangos ou perus.

O conteúdo desta saqueta de Aviguard® 2 tem a quantidade suficiente para administrar a 2000 frangos ou perus.

O conteúdo desta saqueta de Aviguard® 5 tem a quantidade suficiente para administrar a 5000 frangos ou perus.

O conteúdo desta saqueta de Aviguard® 10 tem a quantidade suficiente para administrar a 10000 frangos ou perus.

Apresentações de 50, 2000, 5000 e 10000 doses

Aplicar por spray em aves imediatamente após a eclosão. Dissolver uma saqueta em 0,5 a 1 litro de água. Introduzir a respectiva solução numa bomba de spray considerando um volume de 250 a 500 ml / 1000 aves. Proceder à aplicação sobre as aves em gota grossa imediatamente a seguir à sua mistura.

Aplicar através da água de bebida em aves jovens ou adultas (por exemplo após tratamento anti-infeccioso ou no início da postura). Dissolver o conteúdo desta saqueta numa quantidade de água que corresponda ao consumo das aves em 4 a 8 horas.

10 - Símbolos e indicações de perigo, quando é caso disso

Não aplicável.

11 - Precauções especiais relativas à eliminação do produto não utilizado ou dos seus desperdícios, caso existam

A eliminação do produto deve acautelar a contaminação de cursos e outras fontes de água

12 - Prazo de validade

15 meses

13 - Precauções especiais de conservação

Conservar entre 2 e 8 °C.

Abrir a saqueta somente quando se vai preparar a solução. Não se devem guardar saquetas abertas. A solução deve ser usada o mais breve possível após a sua preparação.



14 - Natureza e conteúdo do recipiente

Saquetas de alumínio-polietileno contendo 15g, 25g, 62,5g e 125g, correspondentes, respectivamente, a 50, 2000, 5000 e 10000 doses

15 - Sobredosagem

Não aplicável

16 - Antídoto e tratamento de emergência

Não aplicável.

17 - Advertências especiais para cada espécie de destino

Não se conhecem.

18 - Intervalo de segurança

Não aplicável.

19 - Incompatibilidade com outros produtos

A água usada na preparação deve estar livre de cloro ($< 0,1$ ppm) e de outros desinfetantes.

20 - Precauções especiais de segurança a adoptarem pela pessoa que, em qualquer circunstância, manipula o produto

Aconselha-se o uso de luvas de borracha durante a preparação da solução.

21 – Titular da Autorização no Introdução no Mercado

Schering-Plough II-Veterinária, Lda

Rua Agualva dos Açores n.º 16

2735-557 Agualva-Cacém



2. Ficha técnica do Bioplus 2B

BioPlus™ 2B (amended)

Presentation

BioPlus 2B is a powder, containing spores of *Bacillus licheniformis* (DSM 5749) at a minimum of 1.6×10^9 colony forming units (CFU)/g and *Bacillus subtilis* (DSM 5750) at a minimum of 1.6×10^9 CFU/g.

The active ingredients will retain their activity after pelleting at 75-95°C. The *Bacillus* strains survive passage through the stomach and produce protease, amylase and lipase enzymes in the gastrointestinal tract, which increases the digestion, of respectively, protein, starch and fat. This leads to increased liveweight gains and improved feed conversion ratios.

* Uses

Microbial feed additive for piglets, grower and finisher pigs, sows, turkeys, broilers and calves. BioPlus 2B is compatible with the following EU approved coccidiostats: diclazuril, halofuginone, monensin sodium, robenidine and salinomycin sodium. It is also compatible with other coccidiostats: meticlorpindol, methyl-benzoquate, nicarbazin, amprolium ethopabate and nifursol.

Dosage

Animal Group	Dosage	CFU/g
Piglets	400 - 1000g/tonne	$(1.28 - 3.2) \times 10^9$
Growers/finishers	150 - 400g/tonne	$(0.48 - 1.28) \times 10^9$
Sows ¹	300 - 600g/tonne	$(0.96 - 1.92) \times 10^9$
Turkeys	400 - 1000g/tonne	$(1.28 - 3.2) \times 10^9$
Broilers	1000g/tonne	3.2×10^9
Calves	400 - 500g/tonne	$(1.28 - 1.6) \times 10^9$

¹ It is expected that the dosage rate for sows will be changed to 400g/tonne (1.28×10^9 CFU/g) during 2004.

Safety

As with all powders avoid inhalation of dust. A facemask should be worn when handling larger amounts. In case of inhalation seek fresh air and avoid further contact. In case of skin or eye contact rinse with water. In case of oral intake, drink plenty of water to dilute. The product is of no hazard according to the legislation on chemicals and hazardous substances.

Legal category

BioPlus 2B is approved under EU Registration number E1700 for piglets and number 20 for grower/finisher pigs, sows, turkeys, broilers and calves.



Storage	Store in a cool, dry place at temperatures not exceeding 37°C. The bag must be closed again after use.	
Shelf life	Minimum 18 months when stored as specified above. Minimum 18 months when mixed into feedingstuff or premixes.	
Packaging	In 20kg net weight quantities in bags.	
Supplier	Orffa UK Ltd. PO Box 113 Northallerton DL6 1YH Tel: 01924 249348 Mob: 07770 772563 Fax: 01924 259631 Contact: David Jennison	Chr. Hansen (UK) Ltd. 2 Tealgate Chamham Park Hungerford Berks RG17 0YT Tel: 01488 689800 Fax: 01488 685436 Contact: David Seale
	Or Tel: 01609 772881 Mob: 07850 663463 Fax: 01609 780941 Contact: Geoff Cartwright	